



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

CARACTERIZAÇÃO DOS MONÓMEROS DE DIFERENTES RESINAS POR HPLC

Trabalho submetido por

Mafalda Catrau

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2015



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**CARACTERIZAÇÃO DOS MONÓMEROS DE DIFERENTES
RESINAS POR HPLC**

Trabalho submetido por

Mafalda Catrau

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por

Doutora Isabel Barahona

Setembro de 2015

Agradecimentos

À minha orientadora Prof. Doutora Isabel Barahona por ter acreditado em mim e neste projeto, e por me ter incentivado sempre a fazer melhor.

Ao Prof. Doutor Jorge Caldeira por toda a ajuda e transmissão de conhecimentos ao longo deste projeto, respondendo sempre às minhas muitas dúvidas rapidamente e de forma simples.

Ao Dr. Vasco Venceslau por ser um mentor e amigo, motivando-me sempre para ser uma profissional de excelência.

Aos meus pais, Rogério e Mãe, por me apoiarem incondicionalmente em todas as minhas escolhas, sem nunca desistirem de mim.

Ao meu irmão e avó que mesmo longe são uma presença e um apoio constante.

À Sofia Ourique, parceira de estudo e amiga para a vida, sem a qual o meu percurso académico não teria tido o mesmo significado.

À Joana Vieira, parceira de box e amiga com a qual aprendi muito e vivi muito.

À Inês, à Luísa e à Maria, amigas há uma vida, pela paciência e amizade ao longo destes anos.

Por último, aos restantes colegas e amigos que de alguma forma influenciaram positivamente o meu crescimento profissional e pessoal.

A todos, um muito obrigada.

RESUMO

Introdução: A polimerização das resinas não é completa pelo que ocorre a libertação para o meio dos monómeros que as constituem. Uma vez que muitos destes são tóxicos e têm efeitos adversos nos tecidos é fundamental saber a constituição das resinas.

Objetivo: Determinar alguns dos monómeros das resinas TAB 2000[®], Protemp 4[™] e Structur 3[®].

Métodos: As resinas foram preparadas de acordo com as instruções do fabricante e segundo o método *sink-in*. Foram analisados os monómeros hidroxietil metacrilato (HEMA), trietilenoglicol dimetacrilato (TEGMA), metil metacrilato (MMA) e dimetacrilato de uretano (UDMA). Os extratos das amostras foram analisados por Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência (HPLC) após períodos de incubação de 24 horas, 7 dias e 14 dias.

Resultados: A resina TAB 2000[®] é constituída por MMA e TEGMA; a Protemp 4[™] por TEGMA e UDMA; e a Structur 3[®] por TEGMA, MMA e UDMA. A TAB 2000[®] é aquela que liberta monómeros em maior concentração. O UDMA atinge concentrações mais elevadas na Structur 3[®]. É nas primeiras 24 horas que a variação da concentração dos monómeros é maior, seguida de um aumento até aos 7 dias e uma diminuição até aos 14 dias em todos os monómeros da Structur 3[®] e do TEGMA na resina TAB 2000[®].

Conclusão: Os materiais estudados libertaram monómeros residuais em concentrações tóxicas. A resina TAB 2000[®] é constituída por MMA e TEGMA; a Protemp 4[™] por TEGMA e UDMA; e a Structur 3[®] por TEGMA, MMA e UDMA. A TAB 2000[®] é aquela que liberta os monómeros em maior concentração. As taxas de libertação dos monómeros tendem a seguir um modelo enzimático, atingindo um equilíbrio ao final de 7 dias. É nas primeiras 24 horas que há uma maior libertação dos monómeros.

Palavras-chave: HPLC; monómero; provisória; resina

ABSTRACT

Introduction: The polymerization in resins is not completed, therefore monomers are released to the environment. Due to the fact some of these monomers are toxic and have side effects in tissues, it is fundamental to characterize the resin.

Objective: To study and to determine some of the monomers of the resins TAB 2000[®], Protemp 4[™] e Structur 3[®].

Methods: Materials were prepared according to the manufacturers' instructions by a sink-in method. The analyzed monomers were hydroxyethyl methacrylate (HEMA), triethylene glycol-dimethacrylate (TEGMA), methyl methacrylate (MMA) and urethane dimethacrylate (UDMA). Analysis of the substances was performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), after incubation periods of 24 hours, 7 days and 14 days.

Results: TAB 2000[®] resin is made of MMA and TEGMA; Protemp 4[™] is made of TEGMA and UDMA; and Structur 3[®] is made of TEGMA, MMA and UDMA. TAB 2000[®] is the one with the highest concentration of eluted monomers. UDMA concentration is higher on Structur 3[®]. In the first 24 hours, the concentration variation of all Structur 3[®] monomers and TEGMA on TAB 2000[®], is the highest, increasing until the 7th day and decreasing afterwards until the 14th day.

Conclusion: The studied materials release residual monomers in toxic concentrations. TAB 2000[®] is made of MMA and TEGMA; Protemp 4[™] is made of TEGMA and UDMA; and Structur 3[®] is made of TEGMA, MMA and UDMA. TAB 2000[®] is the one with the highest concentration of eluted monomers. The monomers release rate is similar to an enzymatic model, where the equilibrium is at the 7th day. In the first 24 hours the elution of the monomers is the highest.

Key-Words: HPLC, monomers, provisional, resin

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO.....	19
1. COROAS PROVISÓRIAS.....	21
1.1. CONFEÇÃO.....	21
1.2. MATERIAIS DE CONFEÇÃO.....	23
1.2.1. RESINAS ACRÍLICAS À BASE DE METACRILATOS.....	24
1.2.2. RESINAS COMPOSTAS.....	26
1.3. PROPRIEDADES DOS MATERIAIS	27
1.4. REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO.....	29
1.4.1. MONÓMEROS RESIDUAIS.....	31
1.5. DEGRADAÇÃO DAS RESINAS E O PERIODONTO.....	34
1.6. TOXICIDADE.....	36
2. SEPARAÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ELEVADA EFICIÊNCIA - HPLC.....	40
3. OBJETIVO.....	41
4. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS.....	41
II. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
1. MATERIAIS.....	43
1.1. RESINAS.....	43
1.2. EQUIPAMENTO LABORATORIAL.....	44
1.3. REAGENTES.....	45
2. MÉTODOS.....	46
2.1. PREPARAÇÃO DAS RESINAS.....	46
2.2. PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PADRÃO.....	47
2.3. OTIMIZAÇÃO DA SEPARAÇÃO POR HPLC.....	48
III. RESULTADOS.....	50
1. CROMATOGRAMA DAS SOLUÇÕES PADRÃO.....	50
2. RETAS DE CALIBRAÇÃO.....	50
3. CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS.....	53
4. TRATAMENTO DE DADOS.....	56
5. GRÁFICOS DAS TAXAS DE LIBERTAÇÃO DOS MONÓMEROS.....	59

IV. DISCUSSÃO.....	65
V. CONCLUSÃO.....	73
VI. BIBLIOGRAFIA.....	75
VII. ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: a) resina de polimetacrilato TAB 2000 [®] ; b) resina composta bis-acrílica Protemp 4 TM ; c) resina composta bis-acrílica Structur 3 [®]	43
Figura 2: Cromatógrafo utilizado no presente trabalho.....	45
Figura 3: Molde de alumínio utilizado para preparar as amostras do presente trabalho.....	47
Figura 4: Representação do cromatograma das soluções padrão em método isocrático 75% AcN.....	48
Figura 5: Cromatograma das soluções padrão em gradiente de concentração.....	49
Figura 6: Cromatogramas das soluções padrão a diferentes concentrações (1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000) em método isocrático 55% AcN.	51
Figura 7: Cromatograma correspondente à amostra iiRA1 com indicação dos tempos de retenção e área de cada pico: $t_r = 4,20$ minutos e área 1153533 correspondente ao TEGMA; e $t_r = 5,37$ minutos e área 786624 correspondente ao MMA.....	54
Figura 8: Cromatograma correspondente à amostra iiiRB1, com indicação dos tempos de retenção e área de cada pico: $t_r = 4,17$ minutos e área 6862 correspondente ao TEGMA; $t_r = 9,34$ minutos e área 1773 correspondente ao UDMA.....	55
Figura 9: Cromatograma correspondente à amostra iiRC1 com indicação dos tempos de retenção e área de cada pico: $t_r = 4.14$ minutos e área 38045 correspondente ao TEGMA; $t_r = 5.38$ minutos e área 206475 correspondente ao MMA; e $t_r = 9.02$ minutos e área 30507 correspondente ao UDMA.....	56
Figura 10: Cromatograma correspondente à amostra iRA1.....	Anexos
Figura 11: Cromatograma correspondente à amostra iiiRA1.....	Anexos
Figura 12: Cromatograma correspondente à amostra iRA7.....	Anexos
Figura 13: Cromatograma correspondente à amostra iiRA7.....	Anexos
Figura 14: Cromatograma correspondente à amostra iiiRA7.....	Anexos
Figura 15: Cromatograma correspondente à amostra iRA14.....	Anexos
Figura 16: Cromatograma correspondente à amostra iiRA14.....	Anexos

Figura 17: Cromatograma correspondente à amostra iiiRA14.....	Anexos
Figura 18: Cromatograma correspondente à amostra iRB1.....	Anexos
Figura 19: Cromatograma correspondente à amostra iiRB1.....	Anexos
Figura 20: Cromatograma correspondente à amostra iRB7.....	Anexos
Figura 21: Cromatograma correspondente à amostra iiRB7.....	Anexos
Figura 22: Cromatograma correspondente à amostra iiiRB7.....	Anexos
Figura 23: Cromatograma correspondente à amostra iRB14.....	Anexos
Figura 24: Cromatograma correspondente à amostra iiRB14.....	Anexos
Figura 25: Cromatograma correspondente à amostra iiiRB14.....	Anexos
Figura 26: Cromatograma correspondente à amostra iRC1.....	Anexos
Figura 27: Cromatograma correspondente à amostra iiiRC1.....	Anexos
Figura 28: Cromatograma correspondente à amostra iRC7.....	Anexos
Figura 29: Cromatograma correspondente à amostra iiRC7.....	Anexos
Figura 30: Cromatograma correspondente à amostra iiiRC7.....	Anexos
Figura 31: Cromatograma correspondente à amostra iRC14.....	Anexos
Figura 32: Cromatograma correspondente à amostra iiRC14.....	Anexos
Figura 33: Cromatograma correspondente à amostra iiiRC14.....	Anexos

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Apresentação das resinas utilizadas no presente trabalho: TAB 2000 [®] , Protemp 4 TM e Structur 3 [®]	44
Tabela 2: Reagentes utilizados no presente trabalho.....	45
Tabela 3: Concentrações das soluções padrão, em gmL^{-1} , dos monómeros HEMA, MMA, TEGMA e UDMA nas diluições 1:250, 1:500, 1:1000, 1:2000 e 1:4000.....	48
Tabela 4: Dados referentes aos cromatogramas das amostras da resina A (TAB 2000 [®]): tempos de retenção e áreas associadas aos picos; conversão das áreas para concentração dos monómeros na amostra.....	57
Tabela 5: Dados referentes aos cromatogramas das amostras da resina B (Protemp 4 TM): tempos de retenção e áreas associadas aos picos; conversão das áreas para concentração dos monómeros na amostra.....	58
Tabela 6: Dados referentes aos cromatogramas das amostras da resina C (Structur 3 [®]): tempos de retenção e áreas associadas aos picos; conversão das áreas para concentração dos monómeros na amostra.....	59
Tabela 7: Tabela com as médias das concentrações (gmL^{-1}) dos monómeros HEMA, TEGMA, MMA e UDMA, nos três tempos de medição das amostras (1 dia, 7 dias e 14 dias), das resinas A, B e C.....	60

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Reta de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero HEMA.....	52
Gráfico 2: Reta de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero TEGMA.....	52
Gráfico 3: Reta de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero MMA.....	53
Gráfico 4: Reta de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero UDMA.....	53
Gráfico 5: Gráfico da taxa de libertação do monómero TEGMA presente na resina A, ao longo do tempo.....	60
Gráfico 6: Gráfico da taxa de libertação do monómero MMA presente na resina A, ao longo do tempo.....	61
Gráfico 7: Gráfico da taxa de libertação do monómero TEGMA presente na resina B, ao longo do tempo.....	61
Gráfico 8: Gráfico da taxa de libertação do monómero UDMA presente na resina B, ao longo do tempo.....	62
Gráfico 9: Gráfico da taxa de libertação do monómero TEGMA presente na resina C, ao longo do tempo.....	62
Gráfico 10: Gráfico da taxa de libertação do monómero MMA presente na resina C, ao longo do tempo.....	63
Gráfico 11: Gráfico da taxa de libertação do monómero UDMA presente na resina C, ao longo do tempo.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

AcN -Acetonitrilo

Bis- EMA - Etoxilato Bisfenol A Dimetacrilato

Bis-GMA - Bisfenol A-metacrilato de Glicidila

BPA - Bisfenol A

COX-2 - Ciclooxygenase-2

DNA - Ácido Desoxiribonucleico

EMA - Etil Metacrilato

FDA - *Food and Drug Administration*

GMA - Metacrilato de Glicidil

HEMA - Hidroxietil Metacrilato

HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*, Cromatografia Líquida de Elevada Eficiência

i-BMA - *iso*-Butil Metacrilato

IL1 - Interleucina 1

IL6 - Interleucina 6

MMA - Metil Metacrilato

mRNA - Ácido Ribonucleico Mensageiro

PEMA - Polietil Metacrilato

PG_{E2} - Prostaglandinas E₂

PMMA - Polimetil Metacrilato

PVEMA - Polivinil Metacrilato

ROS - *Reactive Oxygen Species*, Subprodutos Oxidativos

TEGMA - Trietilenoglicol Dimetacrilato

TNF_α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

UDMA - Dimetacrilato de Uretano

VLC - *Visible Light Cured*, Dimetacrilato de Uretano Fotopolimerizável

LISTA DE SIGLAS

RA - TAB 2000[®]

RB - Protemp 4TM

RC - Structur 3[®]

i - 1^a réplica da mesma amostra

ii - 2^a réplica da mesma amostra

iii - 3^a réplica da mesma amostra

I. INTRODUÇÃO

A prótese fixa é uma área da Medicina Dentária que permite a reabilitação total ou parcial de dentes danificados ou perdidos recorrendo a diferentes tipos de materiais, desde o metal fundido à cerâmica. Pode abranger a restauração de uma única peça dentária ou a reabilitação de uma arcada completa. O objetivo é restabelecer funções mastigatórias, estéticas e oclusais. Para que o tratamento seja bem sucedido é necessário um bom planeamento do caso assim como conhecimentos sólidos dos aspetos biológicos e mecânicos dos materiais a aplicar, devendo o clínico ter um olhar crítico sobre a multidisciplinaridade do caso (Schillenburg et al., 2012).

Quando um doente se submete a um tratamento de reabilitação por prótese fixa, desde o começo do tratamento até à cimentação final da peça, confeccionada em laboratório, decorre um período de tempo que pode ser mais ou menos alargado consoante o caso. Durante este período, o dente deve estar protegido por uma restauração provisória (Michalakakis, Pissiotis, Hirayama, Kang, & Kafantaris, 2006; Patras, Naka, Doukoudakis, & Pissiotis, 2012). Em algumas terapias mais demoradas, como sejam a periodontal ou ortodôntica, a restauração provisória pode permanecer por um período mais alargado, motivo pelo qual o termo *restauração temporária* caiu em desuso (Burns, Beck, & Nelson, 2003; Schillenburg et al., 2012).

Segundo o *Glossary of Prosthodontic Terms*,

"prótese ou restauração provisória é uma prótese dentária ou maxilofacial, fixa ou removível, desenhada para melhorar a estética, estabilidade e/ou função, por um tempo limitado após o qual deve ser substituída por uma prótese dentária ou maxilofacial fixa".

A restauração provisória funciona ainda como um meio complementar de diagnóstico, uma vez que os parâmetros funcionais, oclusais e estéticos, assim como as limitações do tratamento, vão sendo identificados pelo clínico o que permitir a otimização da restauração definitiva. Deve ser por isso semelhante à restauração definitiva que precede

tanto em forma como em função, diferindo desta apenas nos materiais utilizados (Baldissara, Comin, Martone, & Scotti, 1998; Luthardt, Stöbel, Hinz, & Vollandt, 2000; Mathur et al., 2014).

Uma boa restauração provisória deverá cumprir princípios biológicos e mecânicos. Assim, deverá proteger a polpa de variações térmicas excessivas, ter margens bem delimitadas e ser de fácil limpeza para não lesar nem o periodonto nem provocar inflamação do tecido gengival; deverá estar em oclusão com as demais peças dentárias, prevenindo a migração das mesmas e/ou desarmonias articulares ou neuromusculares; ser resistente e retentiva para que se mantenha em boca pelo período necessário e por fim e não menos importante, ser estética (Burns et al., 2003; Michalakis et al., 2006; Patras et al., 2012; Schillinburg et al., 2012).

Para que a restauração apresente as características desejadas, a escolha do material provisório deve ser adaptada ao caso, tendo em consideração as propriedades mecânicas, físicas e de manuseamento do mesmo. Deve ser tida ainda em atenção a biocompatibilidade e as complicações inerentes ao ato clínico como a libertação de calor e de monómeros residuais durante a reação de polimerização do material (Patras et al., 2012).

O material dentário ideal deve ter baixa contração de polimerização, ser resistente à fratura e fadiga de modo a manter a forma e função durante o período necessário; ser resiliente para resistir às forças provocadas pela mastigação; ter baixa condutividade térmica; apresentar estabilidade dimensional em qualquer momento nomeadamente durante variações térmicas; ter boa adaptação marginal, ser de fácil polimento e ter boas características de translucidez e transparência para mimetizar os tecidos orais; ser biocompatível, não produzindo tóxicos durante a manipulação e após a polimerização (Burns et al., 2003; Michalakis et al., 2006; Patras et al., 2012). Apesar dos materiais dentários hoje em dia terem a maioria destas características, nenhum as tem na totalidade (Anusavice, Shen, & Rawls, 2012).

Entende-se como biocompatibilidade a capacidade do material, que executa as suas funções de acordo com a terapia médica instituída, induzir uma resposta adequada do hospedeiro (Gautam et al., 2012).

A irritação da mucosa oral pode ser causada pelo contacto íntimo entre o material restaurador e as células epiteliais, sendo este um dos efeitos locais mais frequente e adverso (Gautam et al., 2012). Esta situação ocorre principalmente quando as coroas apresentam linhas de terminação infragengivais e/ou quando a coroa provisória tem também funções de guia dos tecidos periodontais, funcionando como matriz para cicatrização dos mesmo, permitindo a criação de um perfil de emergência adequado. Desta forma, irá ocorrer uma melhor adaptação futura dos tecidos à coroa definitiva apesar de numa fase provisória ocorrer irritação da mucosa. A adaptação da coroa definitiva é particularmente importante em zonas estéticas (Borzangy, Labban, & Windsor, 2013; Burns et al., 2003; Mathur et al., 2014).

Esta inflamação gengival parece estar relacionada tanto com o efeito citotóxico provocado pela libertação dos monómeros residuais dos materiais dentários, que levam à necrose dos tecidos, como pela má adaptação marginal que promove a acumulação de placa (Borzangy et al., 2013; Gautam et al., 2012).

1. COROAS PROVISÓRIAS

1.1 CONFEÇÃO

As coroas provisórias podem ser confeccionadas através do método direto, em que a peça é feita intraoralmente, pelo método indireto, extraoralmente ou ainda por um método direto-indireto, onde a coroa é realizada extraoralmente mas o acabamento é feito em boca. Podem ainda ser realizadas de uma forma individual ou podem ser coroas pré fabricadas de policarbonato ou metal (Wassell, George, Ingledew, & Steele, 2002).

A técnica direta tem como vantagens o encurtamento do número de consultas e o custo mais baixo mas uma vez que a manipulação dos materiais é feita intraoralmente, a visibilidade é mais reduzida e há presença de saliva. Tem ainda como desvantagem o facto dos materiais utilizados nestas técnicas, libertarem monómeros residuais que são prejudiciais à polpa e por terem uma reação de polimerização exotérmica que pode levar a pulpíte ou mesmo à necrose do dente (Michalakis et al., 2006). Estudos de Zach e Cohen demonstraram que um aumento de 5.6°C leva a uma perda da vitalidade da polpa na ordem dos 15%, um aumento de 11°C a uma perda de 60% e temperaturas superiores a 16.6°C leva à necrose de 100% da polpa (Zach & Cohen, 1965). Desde então vários estudos têm sido feitos para avaliar a libertação de calor durante a polimerização de diversos materiais dentários e todos eles indicam que todos os materiais sofrem uma reação exotérmica, sendo as resinas acrílicas de polimetacrilato (PMMA) as que libertam mais calor, seguidas das de polietilmetacrilato (PEMA) e posteriormente as resinas compostas bis-acrílicas (Kim & Watts, 2004a; Michalakis et al., 2006).

Já a técnica indireta permite uma melhor manipulação do material assim como uma melhoria das propriedades mecânicas e adaptação marginal, mas exige equipamento específico, o que a torna mais cara e mais demorada (Patras et al., 2012). Tem como grande vantagem evitar a reação exotérmica associada à polimerização dos materiais que lesione a polpa dentária uma vez que esta não ocorre em boca.

As coroas pré fabricadas podem ser de policarbonato ou de metal. Existem com diferentes tamanhos e são escolhidas segundo a anatomia de cada dente, embora haja um limite de tamanhos possíveis. As coroas pré fabricadas de policarbonato funcionam como uma matriz para o dente já preparado e são posteriormente finalizadas pelo Médico Dentista com resinas acrílicas (S.-Y. Lee, Lai, & Hsu, 2002). A escolha desta técnica implica uma maior margem de erro uma vez que o tratamento não é tão personalizado (Burns et al., 2003).

Na confeção de coroas individualizadas recorre-se à utilização de matrizes, chaves de silicone, feitas com diferentes materiais de impressão, que servem de guia para a

execução das coroas provisórias. Estas podem reproduzir o dente existente em boca ou reproduzir o dente feito através do encerramento de diagnóstico. Esta chave deve estender-se a pelo menos um dente a montante e a jusante do dente a reabilitar (Burns et al., 2003).

1.2. MATERIAIS DE CONFEÇÃO

Os materiais utilizados para a confecção de coroas ou pontes provisórias pertencem a dois grandes grupos que se distinguem pela sua natureza química. O primeiro grupo inclui as resinas acrílicas à base de metacrilatos sendo as mais comuns as polimetilmetacrilato (PMMA), as polietilmetacrilato (PEMA) e as polivinilmetacrilato (PVEMA) e o segundo grupo inclui as resinas compostas bis-acrílicas e os dimetacrilatos de uretano fotopolimerizáveis (VLC, *visble light cured*) (Balkenhol, Mautner, Ferger, & Wöstmann, 2008; Burns et al., 2003; Michalakakis et al., 2006; Patras et al., 2012).

Os materiais de confecção podem ainda ser classificados segundo a sua reação de polimerização em autopolimerizáveis, se o fator iniciador da reação for químico, termopolimerizáveis, se o fator iniciador for térmico como por exemplo a água quente, e fotopolimerizáveis, se o fator iniciador for a luz visível. Estes materiais podem ainda ser classificados como *dual*, quando são auto e fotopolimerizáveis (Altintas, Yondem, & Tak, 2008; Bettencourt et al., 2010). As resinas acrílicas são na sua maioria autopolimerizáveis e as resinas compostas autopolimerizáveis ou *dual* (Balkenhol, Mautner, et al., 2008).

1.2.1 RESINAS ACRÍLICAS À BASE DE METACRILATOS

PMMA (polimetil metacrilato)

Desde os anos '40 que o material mais utilizado em Medicina Dentária na confecção de coroas provisórias são as resinas acrílicas de polimetil metacrilato. Estes materiais apresentam-se sob a forma de pó-líquido e exigem uma manipulação manual. O componente líquido corresponde ao metil metacrilato (MMA) não polimerizado e o pó corresponde à resina de polimetil metacrilato pré polimerizada na forma de micro esferas. Quando estes dois componentes se misturam nas proporções adequadas, forma-se uma pasta que irá polimerizar (Anusavice et al., 2012; Balkenhol, Mautner, et al., 2008; Mathur et al., 2014).

A porção líquida, para além de monómeros de MMA que irão ser a base para a formação do polímero, contém também hidroquinona que funcionam como um inibidor da polimerização indevida. O pó também contém peróxido de benzoílo, que funciona como um iniciador da polimerização (Leggat & Kedjarune, 2003).

As PMMA apresentam elevada dureza e resistência à fadiga, são fáceis de manusear e têm boa estética que é mantida por longos períodos. Apresentam-se com variadas cores e graus de translucidez. Além disso, cor, características ópticas e propriedades dimensionais mantêm-se estáveis na cavidade oral. Estas resinas têm como grande vantagem permitirem o rebasamento da peça. Têm como desvantagens o facto de terem uma elevada contração de polimerização e uma elevada taxa de libertação de monómeros residuais (Mathur et al., 2014; Wassell et al., 2002). As reações de polimerização exotérmicas podem danificar a polpa uma vez que podem provocar uma subida da temperatura da polpa na ordem dos 7°C e, por isso, na aplicação destes materiais pela técnica direta é necessário utilizar técnicas de refrigeração no dente ou não permitir a polimerização total da resina sobre o dente vital (Kim & Watts, 2004; Michalakis et al., 2006).

PEMA (polietil metacrilato)

As resinas de polietil metacrilato (PEMA) surgiram na década de '60 numa tentativa de ultrapassar as desvantagens das resinas de PMMA. Também estas se apresentam sob a forma pó-líquido, sendo o pó o polímero e peróxido de benzoílo e a componente líquida constituída por etil metacrilato. São bons materiais para utilização intraoral uma vez que a sua contração de polimerização é menor e sofrem uma reação menos exotérmica do que a das PMMA. Contudo têm uma dureza, resistência, estética e estabilidade de cor piores, motivo pela qual as resinas de PMMA continuam a ser mais utilizadas (Mathur et al., 2014; Wassell et al., 2002).

PVEMA (polivinil metacrilato)

As resinas de polivinil metacrilato também se apresentam na forma pó-líquido e apesar de terem uma reação de polimerização menos exotérmica do que as resinas de PMMA, têm piores propriedades físicas quando comparadas com as PMMA e com as PEMA, motivo pelas quais são pouco utilizadas na confecção de coroas provisórias tanto pelo método direto como indireto (Mathur et al., 2014).

1.2.2 RESINAS COMPOSTAS

As resinas acrílicas de monometacrilatos têm vindo a ser substituídas por resinas à base de dimetacrilatos: as bis-acrílicas e os dimetacrilatos de uretano fotopolimerizáveis. Ambas se apresentam sob a forma pasta-pasta associado a um sistema de auto mistura, o que facilita o seu manuseamento (Burns et al., 2003).

Resinas Bis-Acrílicas

Na década de '60, Dr. Ray Bowen reforçou resinas de PMMA autopolimerizáveis com partículas de cerâmica, criando as resinas compostas bis-acrílicas, sendo estas, por isso, constituídas por uma matriz orgânica e partículas inorgânicas (Peutzfeldt, 1997). O polímero que se forma é muito estável, duradouro e estético, assemelhando-se aos compósitos utilizados nas restaurações diretas em Dentisteria Restauradora. Uma das suas grandes vantagens prende-se com o facto da sua reação exotérmica não atingir temperaturas tão altas como a das PMMA (Burns et al., 2003; Peutzfeldt, 1997; Wassell et al., 2002).

As resinas bis-acrílicas são compostas por um conjunto vasto de monómeros multifuncionais como o bisfenol A-metacrilato de Glicidila (Bis-GMA) ou o homólogo etoxilato Bisfenol A Dimetacrilato (Bis-EMA) (Kerby, Knobloch, Sharples, & Peregrina, 2013).

Dimetacrilatos de Uretano Fotopolimerizáveis

Mais recentemente surgiram as resinas de dimetacrilatos de uretano que não utilizam Bis-GMA e apresentam boas propriedades mecânicas. Tal como acontece nas demais resinas compostas, estas têm partículas de sílica o que faz diminuir a sua contração de polimerização. São materiais mais resistentes às forças mecânicas do que os monometacrilatos e as resinas bis-acrílicas pois apresentam uma maior flexibilidade que lhes é conferida pelas ligações de uretano dentro do polímero. Existem numa maior variedade de cores e têm uma razoável estabilidade de cor apesar de também pigmentarem (Kerby et al., 2013).

1.3. PROPRIEDADES DOS MATERIAIS

Quando se escolhe o material com o qual se vai fazer a reabilitação fixa provisória, é necessário ter algumas características em atenção como sejam a adaptação marginal, estabilidade de cor, resposta pulpar e citotoxicidade.

Adaptação Marginal

As restaurações provisórias devem apresentar uma boa adaptação marginal uma vez que é esta que vai proteger o dente de estímulos térmicos, químicos e bacterianos. Quanto menor for a contração, melhor será a adaptação. A contração de polimerização depende da resina uma vez que a densidade do polímero e dos monómeros é diferente nas várias resinas (Burns et al., 2003; Patras et al., 2012). Nos estudos de Lepe et al. conclui-se que esta contração é de 6% para as PMMA e de 1-2% para as resinas compostas (Lepe, Bales, & Johnson, 1999). Assim, seria expectável que as resinas compostas bis-acrílicas, por terem uma menor contração de polimerização, estivessem associadas a uma melhor adaptação marginal comparadas com as de PMMA. No entanto, nos estudos de Balkenlol et al., as resinas à base de monometacrilatos tiveram uma melhor adaptação marginal primária do que as resinas à base de dimetacrilatos. Ainda, resinas compostas à base de dimetacrilatos de marcas diferentes também apresentaram diferenças significativas entre si na adaptação marginal, o que já não aconteceu com as resinas de PMMA. Os autores associam tal facto à influência que os diferentes dimetacrilatos e as suas percentagens têm na adaptação marginal das resinas compostas (Balkenhol, Knapp, Ferger, Heun, & Wöstmann, 2008). Contração de polimerização e adaptação marginal não são diretamente proporcionais uma vez que a contração de polimerização é por vezes compensada pelo aumento volumétrico do material; o tipo de confeção da peça dentária também influencia esta adaptação sendo que coroas confeccionadas com PMMA ou PEMA pelo método indireto apresentam uma adaptação significativamente melhor do que as feitas pelo método direto (Burns et al., 2003; S. H. Kim & Watts, 2004).

Dureza e Resistência

As coroas provisórias também têm de ter dureza e resistência à fractura. Quanto mais tempo se previr a permanência da restauração na boca e quanto maior for a reabilitação, maior será esta necessidade. As resinas à base de monometacrilatos apresentam uma menor dureza e uma maior resistência à fractura, isto é têm uma elasticidade superior às das resinas compostas. Como tal, são mais resistentes ao "stress" mastigatório e por isso mais duradouras (Kim & Watts, 2007; Poonacha, Poonacha, Salagundi, Rupesh, & Raghavan, 2013).

Cor

No que à estética diz respeito, a estabilidade de cor é um fator importante no sucesso da coroa provisória. Pretende-se pois que a peça não sofra alterações de cor com o tempo. No entanto todos os materiais dentários estão sujeitos a mecanismos de absorção e adsorção dos pigmentos presentes nos líquidos em condições ambientais. Também a porosidade, o polimento da superfície da restauração e hábitos de higiene oral vão influenciar a pigmentação destas restaurações. As PMMA parecem ter uma estabilidade de cor superior às resinas compostas autopolimerizáveis embora alguns estudos demonstrem que as resinas bis-acrílicas sejam mais resistentes à descoloração quando submetidas a irradiação ultra violeta. O café é um dos líquidos estudados que mais pigmenta as resinas acrílicas. (Bayindir, Kürklü, & Yanikoğlu, 2012; Sham, Chu, Chai, & Chow, 2004; Wassell et al., 2002).

Libertação de calor

Na escolha do material dentário provisório é importante avaliar a libertação de calor, ou seja, a extensão da reação exotérmica do material, uma vez que agressões químicas ou térmicas podem provocar pulpite reversível ou irreversível ou até mesmo necrose da polpa. Um estudo comparativo sobre a libertação de calor de resinas acrílicas e resinas compostas mostra que estas últimas libertam significativamente menos calor do que

resinas de PMMA. No entanto, não é possível fazer conclusões sobre eventuais lesões pulpares em situação clínica, uma vez que o estudo não tem em consideração variáveis como a condução térmica dos materiais em questão (Altintas et al., 2008). Também, nos estudos de Michalakis, a resina de PMMA estudada foi aquela que apresentou uma reação exotérmica mais extensa, quando comparada com outras resinas acrílicas, bis-acrílicas e resina de dimetracrilato de uretano. Curiosamente foi a resina composta de dimetracrilato de uretano, que provocou o maior aumento de temperatura intrapulpar quando comparado com as demais resinas: PMMA, PEMA e bis-acrílicas, sendo que não tem uma reação exotérmica superior às outras. Os autores sugerem que tal se deve à acumulação da energia libertada e à absorção da irradiação do material aquando da polimerização, já que este material é fotopolimerizável (Michalakis et al., 2006). A quantidade de calor libertado depende ainda da quantidade de material provisório utilizado e do material que serve de matriz para a colocação da resina em boca, no método direto (Altintas et al., 2008; Burns et al., 2003; Michalakis et al., 2006).

Rebasamento

As resinas de PMMA também são melhores do que as bis-acrílicas no que diz respeito ao rebasamento uma vez que as peças dentárias à base destes materiais podem ser reparados e modificados, o que já não acontece com as resinas compostas (Mathur et al., 2014).

1.4. REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO

As resinas são constituídas por diversas moléculas de baixo peso molecular, os monómeros, que juntos formam uma macromolécula, o polímero. Estes materiais são amplamente utilizados em Medicina Dentária uma vez que podem ser moldados, adquirindo uma forma fixa após polimerização.

Nas resinas de PMMA, o polímero resultante é linear, sem reações duplas ou *crosslinks*; nas resinas compostas o polímero tem uma macroestrutura mais ramificada, devido às reações de *crosslink* (Anusavice et al., 2012).

A polimerização tem início na reação de radicais livres que são libertados consoante o tipo de polimerização da resina. As PMMA são autopolimerizáveis enquanto as resinas compostas podem ser auto ou *dual*. No caso das primeiras, a ativação dá-se normalmente por uma amina terciária, que promove a libertação dos radicais livres do iniciador, normalmente o peróxido de benzoílo, à temperatura ambiente, dando início à reação de polimerização. Na polimerização *dual*, para além de iniciadores químicos existe ainda uma canferoquinona que gera radicais livres quando exposta a radiação visível, com comprimentos de onda na ordem dos 470nm (Anusavice et al., 2012; Balkenhol, Mautner, et al., 2008; S.-Y. Lee et al., 2002).

A formação da cadeia polimérica está dependente da estrutura dos monómeros que a constituem assim como das condições de polimerização. À medida que a polimerização vai ocorrendo, a cadeia e os seus constituintes tornam-se mais estáticos, com menos mobilidade, ficando as moléculas presas nesta rede. Assim, a velocidade e capacidade de polimerização diminuem. São as ligações simples de carbono formadas durante a polimerização, a sua extensão e *crosslinking* e a organização das cadeias entre si, que vão determinar as propriedades dos materiais, nomeadamente a sua dureza (Floyd & Dickens, 2006; Stansbury, 2012).

A seleção dos monómeros dá-se com base na sua viscosidade, índice refractário, características hidrofóbicas e hidrofílicas, reatividade e contribuição para o grau de conversão e densidade do polímero. Mais do que os grupos metacrilato, a estrutura e a funcionalidade dos monómeros determinam estas propriedades, que sofrem um efeito aditivo quando são feitas misturas de monómeros. Assim, a escolha dos constituintes das resinas tem como objetivo aumentar o número de ligações cruzadas que se formam, o que leva a um aumento do módulo de elasticidade, dureza e resistência à adsorção e pigmentação (Stansbury, 2012).

A libertação de produtos das resinas está dependente da conversão do monómero em polímero e na quantidade de monómeros existentes à partida. A taxa de conversão indica o número de ligações duplas insaturadas que são convertidas em ligações simples saturadas durante a polimerização, ou seja, corresponde à percentagem de grupos metacrilato que reagiram. A presença de compostos residuais reflete as substâncias (monómeros, aditivos, produtos da reação), que não estão firmemente incorporados na rede polimérica e podem consequentemente ser libertados. Ao serem libertados, estes componentes podem provocar reações sistémicas ou locais. A concentração destes monómeros residuais depende do método e ciclo de polimerização e do tratamento pós polimerização. Regra geral, as resinas autopolimerizáveis têm mais monómeros residuais do que as resinas fotopolimerizáveis (Gautam et al., 2012). Assim, as resinas compostas, à base de dimetacrilatos, com polimerização *dual* são preferíveis às autopolimerizáveis.

1.4.1. MONÓMEROS RESIDUAIS

As características das resinas são dadas tanto pelos monómeros que as constituem como pelo tipo de polimerização. A seleção destes monómeros vai influenciar a reatividade, viscosidade, contração de polimerização e a absorção de água por parte dos materiais dentários (Krifka, Spagnuolo, Schmalz, & Schweikl, 2013; I. D. Sideridou & Papanastasiou, 2007).

Os monómeros presentes nas resinas podem ser divididos em monometacrilatos: metil metacrilato (MMA), hidroxietil metacrilato (HEMA), etil metacrilato (EMA) e *iso*-butilmetacrilato (i-BMA), entre outros; e dimetacrilatos: Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA e trietilenoglicol dimetacrilato (TEGMA), entre outros (Balkenhol, Knapp, et al., 2008; Wassell et al., 2002). As PMMA e PEMA são constituídas essencialmente por monometacrilatos e as resinas compostas por dimetacrilatos (Anusavice et al., 2012; Kerby et al., 2013).

MMA

O MMA é um éster de ácido metacrilato amplamente utilizado na Medicina Dentária. As resinas de PMMA, como descrito previamente, surgem num sistema pó-líquido em que o pó corresponde à base do polímero e o líquido ao MMA. Este monómero é facilmente polimerizável por luz, calor, oxigénio, radiação ou agentes catalisadores. (Leggat & Kedjarune, 2003; Yang, Chou, Chou, & Chang, 2003).

Bis-GMA, TEGMA e HEMA

Apesar da elevada dureza das resinas de PMMA, estas tendem a quebrar. Numa tentativa de colmatar esse problema, os fabricantes introduziram os monómeros Bis-GMA ou Bis-EMA como monómeros base das resinas, que permitem o aumento da flexibilidade da resina (Kerby et al., 2013). No entanto, estes materiais são altamente viscosos o que dificulta o seu manuseamento. Assim, resinas à base dos mesmos têm também na sua constituição monómeros mais pequenos e menos viscosos que funcionam como diluentes, como por exemplo o TEGMA ou o HEMA (Durner, Wellner, Hickel, & Reichl, 2012; I. Sideridou, Tserki, & Papanastasiou, 2002; Stansbury, 2012). Para além de funcionar como diluente, o HEMA facilita a penetração de moléculas como o Bis-GMA e UDMA em ambientes hidrofílicos como sejam a dentina. Este monómero não tem a capacidade de formar uma matriz tridimensional como o TEGMA, uma vez que apenas apresenta uma dupla ligação (Durner et al., 2012).

O Bis-GMA é um dimetacrilato desenvolvido especificamente para ser utilizado na Medicina Dentária, que apresenta uma viscosidade elevada. É preparado a partir de bisfenol A (BPA) e metacrilato de glicidil (GMA). A sua elevada viscosidade deve-se à formação de uma ligação de hidrogénio entre os grupos hidroxilo presentes no anel aromático (Burns et al., 2003; Lemon, Jones, & Stansbury, 2007; Stansbury, 2012).

O Bis-GMA, por ser uma molécula com maior peso molecular do que o MMA, é menos volátil e por isso sofre menos contração de polimerização e é menos tóxico uma vez que a sua difusão para os tecidos é menor (I. Sideridou et al., 2002).

O Bis-GMA e o Bis-EMA são análogos, diferenciando-se apenas em dois grupos hidroxilo presentes nas extremidades do primeiro, o que lhe permite formar ligações de hidrogénio mais fortes e ser consequentemente mais viscoso (I. Sideridou et al., 2002). Devido ao facto do Bis-EMA ser menos viscoso do que o Bis-GMA, uma resina à base de Bis-EMA poderá dispensar a associação ao monómero TEGMA (Gonçalves, Kawano, Pfeifer, Stansbury, & Braga, 2009).

Apesar da sua função como diluente, a presença de TEGMA piora as propriedades da resina, fazendo aumentar a absorção de água, contração de polimerização e a libertação de monómeros residuais por parte destas resinas. Os fabricantes deparam-se assim com um dilema entre as vantagens e desvantagens deste monómero: se por um lado ele é necessário para tornar a resina menos viscosa, o que não só facilita o seu manuseamento, como também aumenta o grau de conversão; por outro lado, o aumento da contração de polimerização associado ao TEGMA, vai levar à formação de espaços vazios na resina, o que afeta negativamente a qualidade da resina (Floyd & Dickens, 2006; I. Sideridou et al., 2002; Stansbury, 2012).

UDMA

O UDMA surge como uma alternativa à utilização de resinas à base de associações de Bis-GMA e TEGMA, uma vez que este é um dimetacrilato com peso molecular semelhante ao Bis-GMA mas menos viscoso do que esse, não necessitando de ser associado ao TEGMA (Balkenhol, Knapp, et al., 2008). Este monómero apresenta um ou mais grupos uretano, dois grupos metacrilato nas suas extremidades e poucas ligações de hidrogénio. Por ter poucas ligações de hidrogénio, é menos viscoso do que o Bis-GMA mas devido à presença de grupos uretano é mais viscoso do que o Bis-EMA ou TEGMA. Estes grupos uretano conferem ainda ao monómero uma maior

flexibilidade, melhorando a rigidez das resinas. (Hsiao Hua Chang et al., 2014; Peutzfeldt, 1997; I. Sideridou et al., 2002; Stansbury, 2012).

Os polímeros à base de Bis-GMA ou UDMA tendem a ser hidrofílicos uma vez que contêm grupos polares hidroxilo e ligações ao grupo uretano, respetivamente, que formam ligações de hidrogénio com a água. Isto pode levar à absorção de água o que leva à diminuição das propriedades mecânicas destes materiais (Kerby et al., 2013).

1.5. DEGRADAÇÃO DAS RESINAS E RELAÇÃO COM O PERIODONTO

Os constituintes dos materiais dentários podem-se libertar na cavidade oral devido à polimerização incompleta numa fase inicial e mais tarde por processos de degradação (Krifka et al., 2013; Van Landuyt et al., 2011).

A biodegradação define-se como a alteração das propriedades mecânicas, físicas e químicas dos materiais. Diferentes fatores como as características da saliva, a mastigação e as alterações químicas e térmicas da dieta podem ser responsáveis pela degradação das resinas acrílicas, provocando a libertação de compostos potencialmente tóxicos presentes nas resinas e alterando as suas propriedades (Bettencourt et al., 2010; Gautam et al., 2012).

As resinas presentes na cavidade oral podem sofrer diferentes tipos de degradação: química, tanto por hidrólise como por outras reações enzimáticas; ou física uma vez que as moléculas de água constituintes da saliva têm a capacidade de penetrar na rede polimérica provocando a libertação de aditivos e/ou monómeros que não tenham sido polimerizados. A hidrólise enzimática pode gerar uma variedade de subprodutos metabólicos, potencialmente tóxicos, como por exemplo o ácido metacrílico (Emmler et al., 2008).

A composição das resinas é um fator muito importante na extensão da biodegradação uma vez que, como já referido anteriormente, os diferentes monómeros têm diferentes graus de conversão e contração de polimerização. Resinas compostas à base de UDMA tendem a sofrer mais degradação hidrolítica do que resinas compostas à base de Bis-GMA (Bettencourt et al., 2010; Hsiao Hua Chang et al., 2014; Stansbury, 2012).

Os monómeros resultantes da polimerização incompleta e biodegradação vão ser libertados e interagir com os tecidos orais, levando à ocorrência de processos inflamatórios (Krifka et al., 2013).

Tanto a inflamação gengival como a recessão são eventuais problemas associados às coroas e pontes provisórias e descritos na literatura (Donaldson, 1973; Luthardt et al., 2000; Rakhshan, 2014). Donaldson nos seus estudos verificou que em 80% dos casos avaliados ocorreu recessão gengival, que esta estava dependente do tempo em que a restauração se mantinha em boca e que em 1/3 dos casos, a colocação posterior da restauração definitiva levou a uma recuperação do perfil gengival inicial (Donaldson, 1973). Já Luthardt et al. verificaram um aumento de placa bacteriana associada a restaurações provisórias em prótese fixa mas sem que esta levasse a inflamação gengival durante 37 dias (Luthardt et al., 2000).

A inflamação gengival está associada à degradação do colagénio, que ocorre ao nível da gengiva aderida, nas zonas dos sulcos e de recessão. Nestes locais, as células epiteliais, como resposta aos estímulo dado pela presença de produtos tóxicos, produzem interleucinas próinflamatórias que alteram a expressão de metaloproteinases, proteínas estas responsáveis pela remodelação da matriz extracelular de colagénio. Nos estudos de Borzangy, verificou-se ainda que na presença de resinas PMMA e PEMA autopolimerizáveis, as células epiteliais produziam menos IL-3, interleucina que está associada à regulação da apoptose celular (Borzangy et al., 2013). Assim, pode ocorrer a apoptose de células epiteliais o que leva à perda de gengiva aderida e/ou recessão e consequentemente a um estímulo da resposta inflamatória (Borzangy et al., 2013).

Também a inflamação da polpa é um problema que advém da utilização destes materiais dentários. Tal como descrito previamente, a libertação de calor durante a polimerização pode lesá-la, levando-a à pulpíte ou mesmo necrose. No entanto, a inflamação pulpar pode ainda estar associada a uma reação imunológica como resposta à difusão de monómeros tóxicos como o TEGMA, HEMA ou UDMA até à polpa. Estes compostos difundem-se pela dentina, provocando uma desregulação do ciclo celular e alteração do balanço redox das células presentes na dentina, o que pode culminar na apoptose das mesmas (Hsiao Hua Chang et al., 2014; Schweikl, Spagnuolo, & Schmalz, 2006).

1.6. TOXICIDADE

A toxicidade dos materiais utilizados na Medicina Dentária foi motivo de preocupação e de investigação já que os monómeros libertados pelas resinas podem ser alergénicos e provocar efeitos adversos locais e sistémicos. No entanto, não são só os monómeros, mas também os aditivos e subprodutos destes que podem ser citotóxicos, genotóxicos e/ou mutagénicos (Durner et al., 2012; Emmmler et al., 2008).

Apesar de ainda não se compreender totalmente os mecanismos associados à citotoxicidade destes materiais, vários estudos têm sido feitos nos últimos anos que atribuem o efeito nefasto dos monómeros residuais a três grandes motivos: depleção de glutathione nas células, aumento da produção de subprodutos oxidativos (ROS), o que leva a um descontrolo do balanço redox com consequente apoptose celular, e alteração da transcrição de ciclooxigenase-2 (COX-2) (H. H. Chang et al., 2012; Durner et al., 2012; D. H. Lee, Kim, Lim, Lee, & Yang, 2009).

Todas as células têm intracelularmente subprodutos oxidativos, como o peróxido de hidrogénio, superóxido e radicais hidroxilo. Estes são produzidos de forma endógena e exógena. Uma vez que estes compostos são tóxicos, a célula tem um conjunto de mecanismos protetores que utilizam diferentes moléculas, não enzimáticas e enzimáticas, que permitem a sua proteção. A glutathione é um dos antioxidantes não

enzimáticos que permite o controlo do balanço redox. Assim, quando os monómeros de resina levam à depleção de glutathione, há um aumento de ROS e o balanço entre subprodutos oxidativos e moléculas antioxidantes é interrompido. A presença destes monómeros também leva ao aumento de ROS, que são compostos tóxicos. Estudos feitos em fibroblastos presentes na polpa dentária sugerem que tanto o TEGMA como o HEMA levam ao aumento da produção de ROS e depleção de glutathione o que provoca um aumento do stress oxidativo da célula que pode levar à paragem do ciclo celular ou à apoptose. Desta forma, estes monómeros interferem nas vias de transdução de sinal das células (Becher et al., 2006; Krifka et al., 2013; Schweikl et al., 2006).

A combinação da depleção de glutathione, aumento de ROS intracelular e o consequente aumento do stress oxidativo podem estar relacionados com a regulação da expressão da COX-2, o que leva ao aumento de uma resposta inflamatória (D. H. Lee et al., 2009).

A COX-2 é uma enzima indutível fundamental para a produção de mediadores inflamatórios como as prostaglandinas, nomeadamente a PG_{E2} . Esta enzima só é expressa em situação de inflamação e é responsável pelos processos inflamatórios agudos e crónicos. A expressão da COX-2 é regulada por uma série de citocinas como a IL1, IL6 e TNF_{α} (H. H. Chang et al., 2012; Hsiao Hua Chang et al., 2014; D. H. Lee et al., 2009).

Diversos estudos feitos em diferentes tipos celulares, apontam para uma relação positiva entre a presença de TEGMA e HEMA e o aumento da expressão da COX-2. Nos estudos de Lee (D. H. Lee et al., 2009), foi demonstrado que a presença de ambos os monómeros leva ao aumento da expressão de COX-2, embora só o TEGMA tenha levado ao aumento da produção de PG_{E2} nas células. Os autores sugerem que o aumento da expressão de COX-2 induzida pelo HEMA não tenha sido suficiente para que se verificasse um aumento na produção da prostaglandina, apesar de ser observada depleção de glutathione e aumento de ROS intracelular. As doses subletais de TEGMA que induziram a expressão da COX-2 foram 0.1-0.4mmol/L. Num outro estudo, Chang e colegas (H. H. Chang et al., 2012), concluíram que as doses subletais de TEGMA necessárias para induzir efeitos na expressão do mRNA (ácido ribonucleico mensageiro)

e da proteína COX-2 foram de 1-5mmol/L, sendo que a concentração de 2.5mmol/L foi aquela que mais aumentou a expressão de COX-2. O autor atribui esta diferença significativa de concentrações em relação ao estudo de Lee, ao facto de terem sido estudadas células com metabolismos diferentes nos dois ensaios: o primeiro com células da polpa humanas, ricas em fibroblastos, e o segundo com monócitos de roedor. Ainda, em células da polpa verificaram que quando expostos a 1-2.5mmol/L de TEGMA, ocorre paragem do ciclo celular entre as fases G2/M e se as células forem expostas a uma concentração mais elevada de 5mmol de TEGMA ocorre a paragem do ciclo celular na fase S (H. H. Chang et al., 2012; D. H. Lee et al., 2009).

Recentemente, Chang et al. demonstraram que também o monómero UDMA estava associada à regulação da expressão da COX-2. Células pulpares em presença de 0.25 mM de UDMA alteram a expressão do mRNA e da própria proteína COX-2 associada a inflamação das células. Verificaram ainda que a concentração de 0.35mM de UDMA, as células da polpa eram afetadas, ocorrendo apoptose. Quando se introduziram enzimas responsáveis pela degradação de ROS, a taxa de sobrevivência das células pulpares foi superior o que indica uma associação entre a citotoxicidade do UDMA e a produção de ROS e/ou diminuição de glutathione (Hsiao Hua Chang et al., 2014). O mesmo tipo de ensaios tinha sido feito anteriormente, utilizando como monómero o TEGMA e os resultados e conclusões foram semelhantes (D. H. Lee, Lim, Lee, Ahn, & Yang, 2006).

Apesar da avaliação da toxicidade destes monómeros individualmente ser de extrema importância, em situações clínicas os monómeros encontram-se numa mistura de monómeros uma vez que uma resina apresenta vários constituintes. Assim, Durner e colegas (Durner et al., 2012), avaliaram a sinergia tóxica de diferentes misturas de monómeros tendo concluído que a mistura Bis-GMA/TEGMA foi aquela que apresentou um EC_{50} ¹ menor, logo, a mais tóxica. Estas conclusões corroboram estudos anteriores que mostram que o Bis-GMA é individualmente o monómero mais tóxico, seguido do UDMA, TEGMA, HEMA e por fim o MMA (Becher et al., 2006; Durner et al., 2012; Geurtsen, Lehmann, Spahl, & Leyhausen, 1998).

¹ EC_{50} - half maximum effect concentration. Metade da concentração máxima necessária para se verificarem efeitos.

Para além dos efeitos citotóxicos supracitados, o TEGMA, HEMA, Bis-GMA e UDMA são mediadores de efeitos genotóxicos uma vez que por um lado afetam o mecanismo de síntese de DNA (ácido desoxiribonucleico), e por outro lado levam ao aumento da quantidade de ROS intracelular, produtos que estão identificados como moléculas que degradam o DNA. Associada aos monómeros HEMA e MMA não foi detetada nenhuma mutação genética, embora a concentrações elevadas de HEMA estejam associados níveis altos de micronúcleos². Assim, o HEMA, pode também estar envolvido em processos que levem a alterações do DNA, ainda por entender (Schweikl et al., 2006).

O MMA é o monómero menos descrito como sendo citotóxico. É considerado um agente irritante e sensibilizante, causando reações alérgicas tipo eczema tanto na mucosa oral como na pele, podendo também ser tóxico no ambiente de consultório devido ao facto de ser volátil. Um dos riscos a ele associado é a dermatite de contato resultante da manipulação das resinas de PMMA. Esta ocorre essencialmente por mecanismos de ativação/desativação de enzimas e reconhecimentos de antígenos ao interagir com proteínas à superfície da pele (Pemberton & Lohmann, 2014; Peutzfeldt, 1997).

Um estudo de Yang et al. (Yang et al., 2003) mostra que o MMA inibe o crescimento celular, dependendo da dose e do tempo de exposição, embora os mecanismos moleculares afetados continuem desconhecidos. Poderão estar associados a alterações na transdução de sinal como regulação do metabolismo lipídico, produção de citocinas, inibição da viabilidade celular via atividade mitocondrial ou mesmo por inibição da síntese de DNA. Esta inibição é considerada mais uma forma de citotoxicidade sendo prematuro falar em genotoxicidade. À concentração de $9.33 \times 10^{-4} \mu\text{g mL}^{-1}$ foram encontrados efeitos citotóxicos em células de hamster (Yang et al., 2003).

Apesar de estar estabelecido que os monómeros presentes nas resinas têm efeitos tóxicos, para poder ser feita uma correta avaliação da toxicidade dos materiais é

² Micronúcleos são fragmentos de cromossomas que não foram devidamente incorporados nas células filha no processo de divisão celular. A sua presença está associada a aberrações cromossomais.

necessário saber quais as quantidades libertadas de cada componente e quais os valores tóxicos celulares dos monómeros separados e em diferentes misturas, para que desta forma seja mimetizado o que ocorre clinicamente (Van Landuyt et al., 2011).

2. SEPARAÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ELEVADA EFICIÊNCIA - HPLC

A quantidade de monómeros residuais pode ser medida por um conjunto de técnicas como a espetofotometria de massa, cromatografia por gás e cromatografia líquida de elevada eficiência (*high performance liquid chromatography*, HPLC), sendo esta última a técnica mais comum (I. D. Sideridou & Achilias, 2005; Van Landuyt et al., 2011). Através deste método, os componentes das misturas são separados sequencialmente, ao passarem pela coluna de cromatografia. Para posterior identificação das moléculas separadas por HPLC recorre-se à avaliação dos picos de absorvância dos componentes da amostra que só é possível se o método for previamente calibrado através de curvas de calibração (Polydrou, König, Hellwig, & Kümmerer, 2009; Van Landuyt et al., 2011).

Estudos anteriores associam os materiais provisórios utilizados em Medicina Dentária a diferentes níveis de toxicidade e atribuem as diferenças aos diferentes monómeros presentes. Quais os constituintes das mesmas e quais as taxas de libertação a eles associadas não é claro uma vez que frequentemente esta divulgação está protegida por patentes (Ulker et al., 2009). Desta forma, pretende-se com este trabalho caracterizar três resinas utilizadas com regularidade na confeção de coroas e pontes provisórias: TAB 2000®, Protemp 4™ e Structur 3®, quanto à sua constituição e à taxa de libertação dos componentes ao longo de intervalos de tempo pré definidos. Para tal recorreu-se à separação cromatográfica por HPLC.

3. OBJETIVO

Este estudo tem como objetivo caracterizar três resinas: TAB 2000[®] (Kerr), Protemp 4[™] (3M ESPE) e Structur 3[®] (VOCO), através da identificação e quantificação dos seus monómeros, bem como através da avaliação e comparação das suas taxas de libertação.

4. HIPÓTESES EXPERIMENTAIS

HIPÓTESE NULA

Não há diferenças no tipo, concentração e taxas de libertação dos monómeros constituintes das três resinas estudadas: resina de PMMA, TAB 2000[®]; resinas bis-acrílicas, Protemp 4[™] e Structur 3[®].

HIPÓTESE EXPERIMENTAL

Há diferenças no tipo, concentração e taxas de libertação dos monómeros constituintes das três resinas estudadas: resina de PMMA, TAB 2000[®]; resinas bis-acrílicas, Protemp 4[™] e Structur 3[®].

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. MATERIAIS

1.1. RESINAS

No âmbito deste trabalho foram avaliadas três tipos de resinas utilizadas na confecção de restaurações provisórias em prótese fixa: TAB 2000®, resina acrílica autopolimerizável de polimetilmetacrilato; Protemp 4™ e Structur 3®, resinas compostas bis-acrílicas autopolimerizáveis (Figura 1).

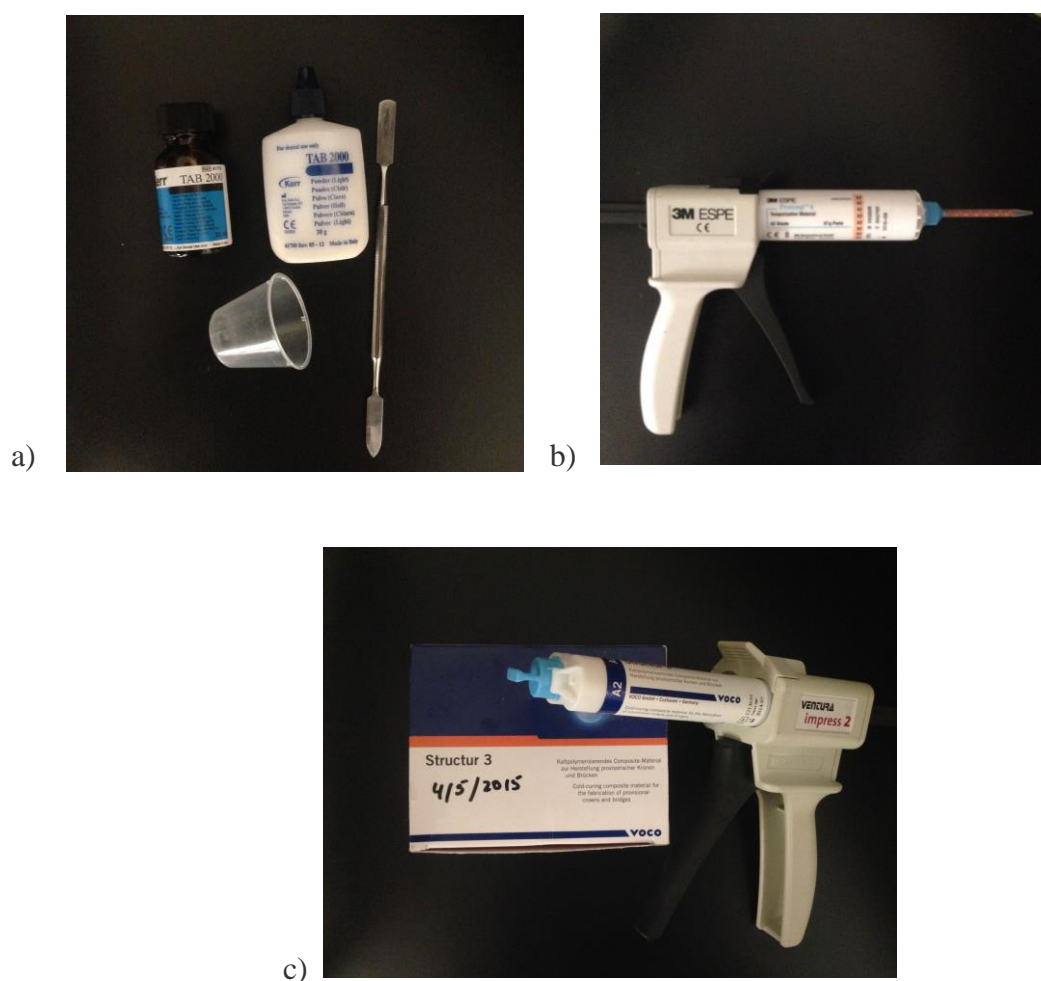


Figura 1: a) resina de polimetacrilato TAB 2000®; b) resina composta bis-acrílica Protemp 4™; c) resina composta bis-acrílica Structur 3®.

Identificação da resina	Tipo de Resina	Referência	Lote	Descrição do Fabricantes
TAB 2000® (Kerr, Itália)	Acrílica Autopolimerizável	61770	5234699	. Partículas de MMA (componente líquido) . Esferas pré-polimerizadas (componente pó)
Protemp 4TM 4 (3M ESPE, Germany)	Composta Bis-acrílica	46956	564280	. Polímero de dimetacrilato . Bis-GMA . Partículas de zircónio, sílica e silano . Pigmentos
Structur 3® (VOCO)	Composta Bis-acrílica	2504	1221295	. Ácido metacrílico multifuncional

Tabela 1: Apresentação das resinas utilizadas no presente trabalho: TAB 2000®, Protemp 4TM e Structur 3®.

1.2. EQUIPAMENTO LABORATORIAL

Para a análise e quantificação das soluções padrão e amostras de resinas foi utilizado o método por HPLC recorrendo-se a um cromatógrafo Merck Hitachi LaChrom, com um interface D-700, uma bomba L-7000, um detetor UV por vetor de díodos D-7400 e um forno de coluna D-7350 (Figura 2). Os componentes de todas as soluções foram separados através de uma coluna RP-18 Merck LiChrospher® 250-4 (250x4 mm, 5 µm, 250 bar) de fase reversa e uma pré coluna Merck (Darmstadt, Alemanha). O registo de informação foi obtido através do *software* laChrome.

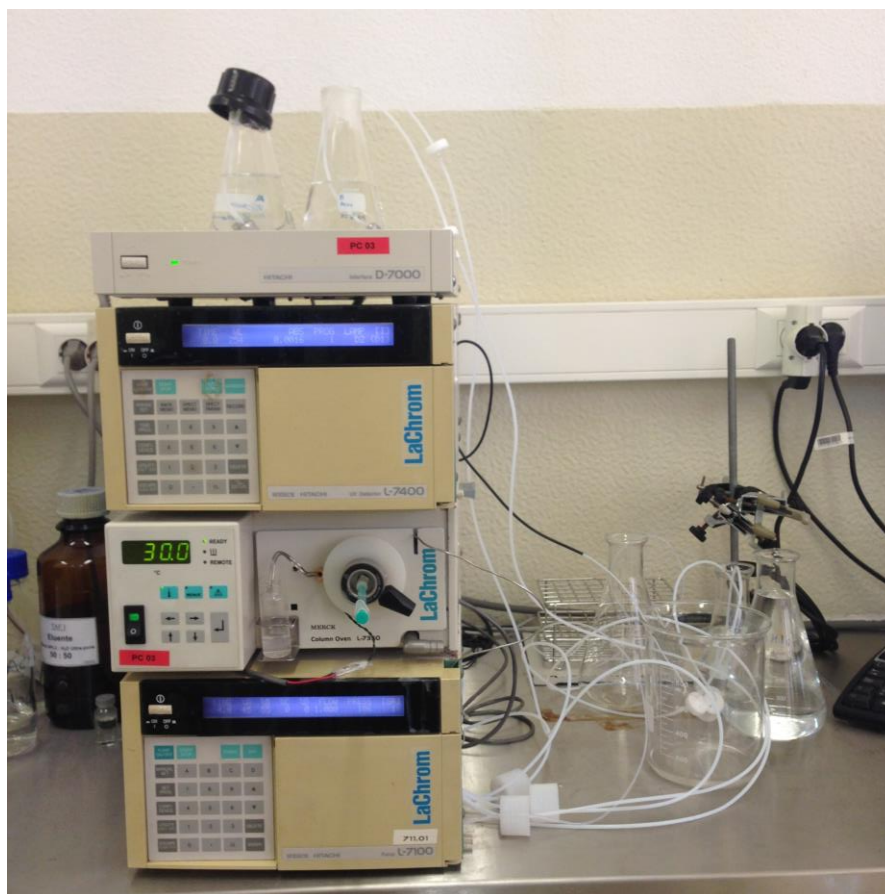


Figura 2: Cromatógrafo utilizado no presente trabalho.

Foi ainda utilizado material laboratorial comum como *ependorfs*, micropipetas, provetas e gobelés.

1.3. REAGENTES

Reagente	Fonte	Referência
Metilmetacrilato (MMA); 99%	Aldrich Chemistry (Steinheim, Alemanha)	M55909-25ML
2- hidroxietilmetacrilato (HEMA); 99%	Aldrich Chemistry (Steinheim, Alemanha)	477028-25ML
Trietilenoglicol dimetacrilato (TEGMA); 95%	Aldrich Chemistry (Steinheim, Alemanha)	261548-250ML
Dimetacrilato de uretano (UDMA); 97% mistura de isômeros	Aldrich Chemistry (Steinheim, Alemanha)	436909-100ML
Acetonitrilo; 99.9%	Carlo Erba Reagents (Val-de-Reuil, França)	D5D005305C
Água desionizada; R = 18,2 MΩ.cm	Millipore Synergy ® UV SmartPak (França)	

Tabela 2: Reagentes utilizados no presente trabalho.

2. MÉTODOS

2.1 PREPARAÇÃO DAS RESINAS

A manipulação das resinas foi feita segundo instruções do fabricante. No caso da resina TAB 2000[®], a manipulação foi feita manualmente no copo fornecido pelo mesmo, recorrendo a uma espátula reta dupla de metal (Medesy 675-3, Itália), tendo sido esta também utilizada na colocação da resina nos moldes. Para as resinas compostas Protemp 4[™] 4 e Structur 3[®], a manipulação foi feita por pistolas em sistema de auto mistura, fornecidas pelos respetivos fabricantes. Previamente à sua dispensa, uma pequena quantidade de material foi desperdiçado para avaliar a homogeneidade da mistura.

As resinas foram colocadas num molde de alumínio com 16 formas cilíndricas e dimensões 4mm/2 mm, com uma área de superfície total de 50 mm² (Figura 3), colocado entre duas placas de *petri* rígidas. Após polimerização, as amostras foram removidas da forma e polidas com discos de polimento Sof-Lex (3M ESPE). Decorridos 30 minutos de polimerização, estas foram colocadas num *ependorf* (método *sink-in*) contendo uma solução de 1.5 mL de etanol a 75% e incubadas a 37°C (incubadora 2406 SHEL LAB Basic CO2 Jacketed Incubator, Shel Lab) por um período de tempo variável, consoante o tipo de ensaio. Segundo a *guideline* da *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos da América, estas são as condições que melhor mimetizam o que ocorre na cavidade oral. Às 24h, 7 dias e 14 dias, as amostras foram retiradas da incubadora, os discos de resinas foram removidos dos *ependorf* e as soluções colocadas a -21°C para futura análise por HPLC.

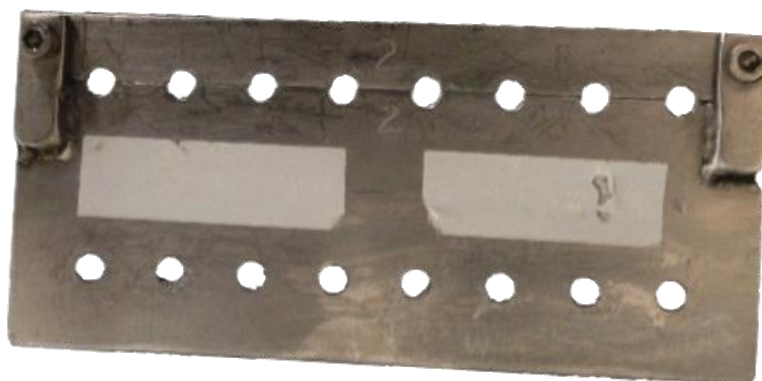


Figura 3: Molde de alumínio utilizado para preparar as amostras do presente trabalho.

Na mistura de pó-líquido da resina TAB 2000[®], foi utilizado o pó de cor *light*. A resina Protemp 4[™] e Structur 3[®] tinham cor A2.

Para melhor identificação das amostras, foram atribuídas siglas, letras *i* e números, às mesmas:

RA - TAB 2000 [®]	i - 1 ^a réplica da mesma amostra	1 - tempo 24h (1 dia)
RB - Protemp 4 [™]	ii - 2 ^a réplica da mesma amostra	7 - tempo 7 dias
RC - Structur 3 [®]	iii - 3 ^a réplica da mesma amostra	14 - tempo 14 dias

Ex.: iiRC7 - 2^a réplica da resina C, medida aos 7 dias.

2.2. PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PADRÃO

A partir das soluções puras dos monómeros MMA, HEMA, TEGMA e mistura de isômeros de UDMA, foram feitas soluções, em concentrações de 1:50 (v/v), as quais foram sucessivamente diluídas em AcN. Obtiveram-se assim soluções 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000 e 1/4000, medidas posteriormente em HPLC de fase reversa (Tabela 3).

Monómero	Concentração das diluições (gmL ⁻¹)				
	1/250	1/500	1/1000	1/2000	1/4000
HEMA	4.292E-3	2.146E-3	1.073E-3	5.365E-3	2.683E-3
MMA	3.744E-3	1.872E-3	9.36E-3	4.68E-3	2.34E-3
TEGMA	4.104E-3	2.052E-3	1.026E-3	5.13E-3	2.565E-3
UDMA	4.4E-3	2.2E-3	1.1E-3	5.5E-3	2.75E-3

Tabela 3: Concentrações das soluções padrão, em gmL⁻¹, dos monómeros HEMA, MMA, TEGMA e UDMA nas diluições 1:250, 1:500, 1:1000, 1:2000 e 1:4000.

2.3. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE HPLC

Foi feita uma análise cromatográfica de uma mistura dos quatro monómeros estudados neste trabalho: MMA, HEMA, TEGMA e UDMA. Começou-se pelo método isocrático unitário, a um fluxo de 1000µLmin⁻¹, usando como eluente uma solução de acetonitrilo (AcN) 75% e água millipore 25%, num comprimento de onda de 280 nm e volume de injeção de 50 µL (Figura 4).

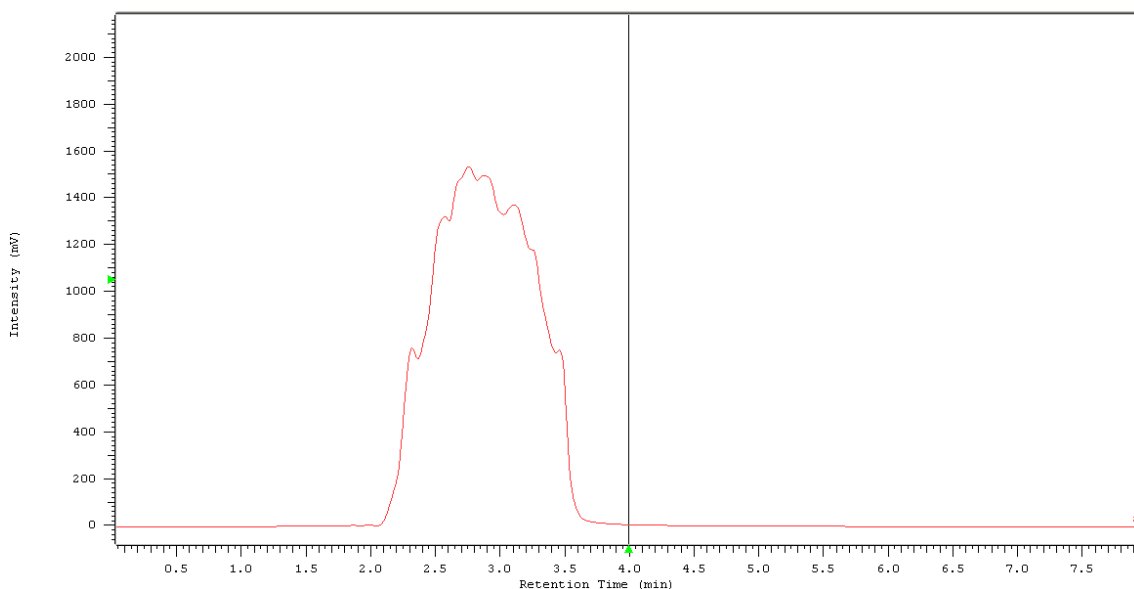


Figura 4: Representação do cromatograma das soluções padrão em método isocrático 75% AcN.

Devido à sobreposição dos picos correspondentes à separação dos monómeros, optou-se por fazer um gradiente de concentração de AcN para melhor entender a que percentagens são os monómeros libertados e qual o volume de injeção necessário. Para tal, do t_0 ao t_5 a fase móvel de AcN correspondeu a 85%, de t_{20} a t_{29} a 20% e de t_{30} a t_{45} a 85% novamente (Figura 5).

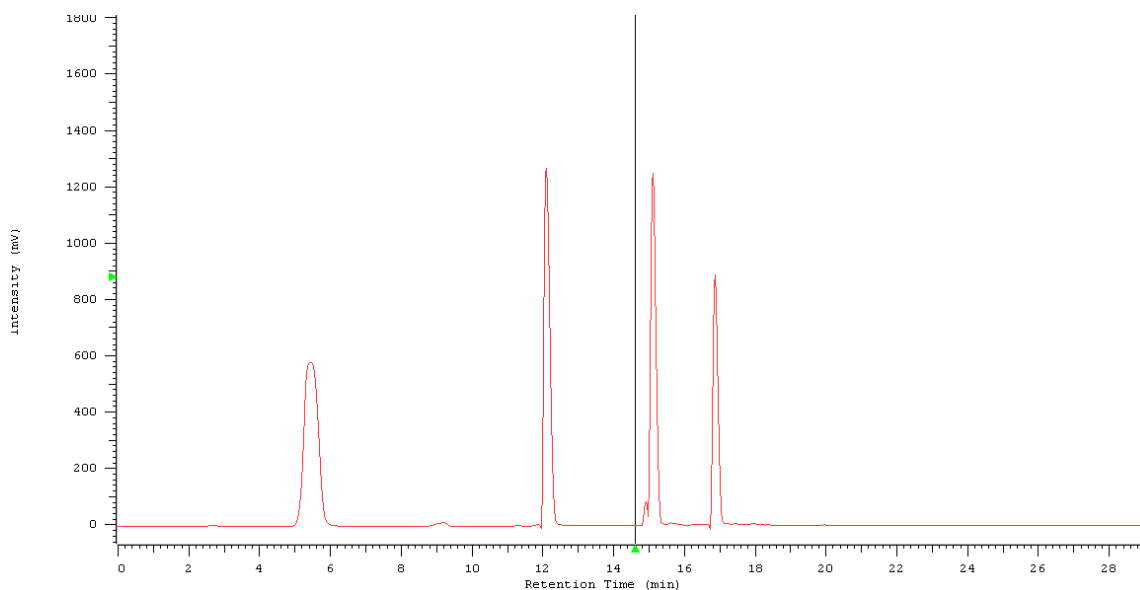


Figura 5: Cromatograma das soluções padrão em gradiente de concentração.

Fazendo uma média teórica das percentagens de AcN a que cada composto foi libertado, estipulou-se o método isocrático, a um fluxo de $1000\mu\text{L}/\text{min}$, fase móvel de AcN 55% e comprimento de onda de 254 nm.

Foram feitas misturas de soluções dos monómeros em pares (MMA/UDMA, HEMA/UDMA e MMA/TEGMA), e analisadas por HPLC, de forma a ser possível identificar os quatro picos da mistura dos compostos.

III. RESULTADOS

1. CROMATOGRAMA DAS SOLUÇÕES PADRÃO

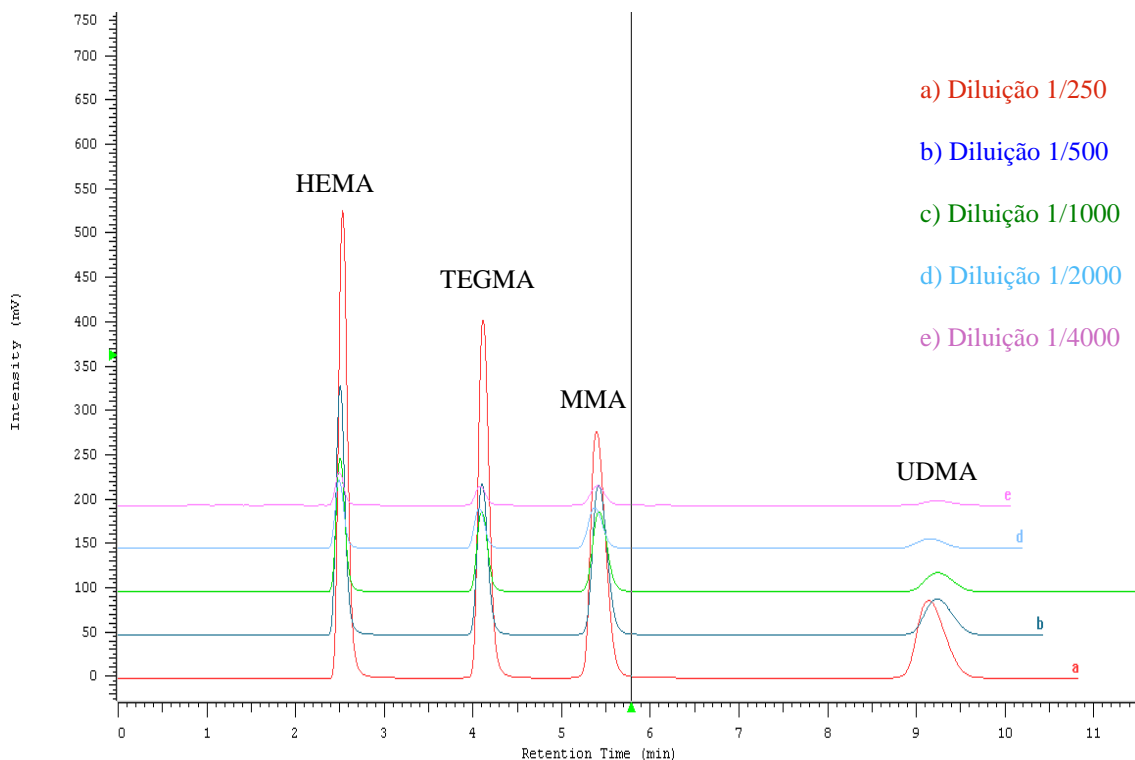


Figura 6: Cromatogramas das soluções padrão a diferentes concentrações (1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000) em método isocrático 55% AcN.

A partir do cromatograma das soluções padrão obtiveram-se os tempos de retenção para cada um dos monómeros: 2,51 minutos para o HEMA; 4,10 minutos para o TEGMA; 5,40 minutos para o MMA; e 9,20 minutos para o UDMA.

2. RETAS DE CALIBRAÇÃO

Com base nas soluções padrão a diferentes concentrações foi possível efetuar as retas de calibração de concentração vs. área do pico, para quantificação de cada composto (Gráfico 1 a 4). Determinou-se a linearidade de cada monómero por análise do coeficiente de regressão (R^2) das retas, considerando o desvio padrão residual de cada

uma. Determinaram-se os limites mínimos detetáveis e qualificáveis do método a partir do ruído de valor 0,325. Assim, o limite detetável foi de 0,975 mV (3x o valor do ruído) e o limite quantificável 3,25 mV (10x o valor do ruído).

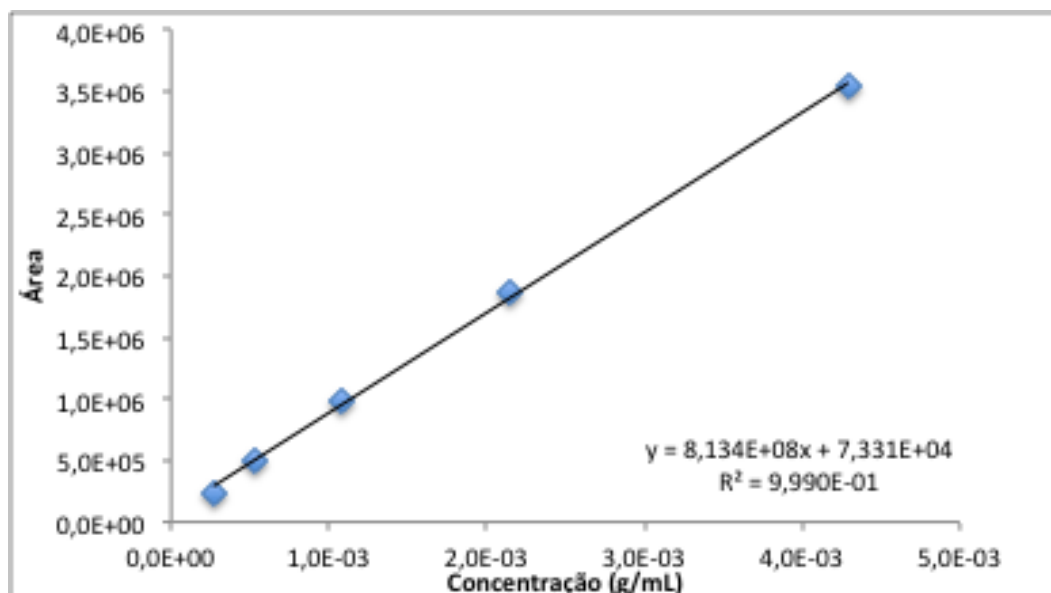


Gráfico 1: Reta de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero HEMA

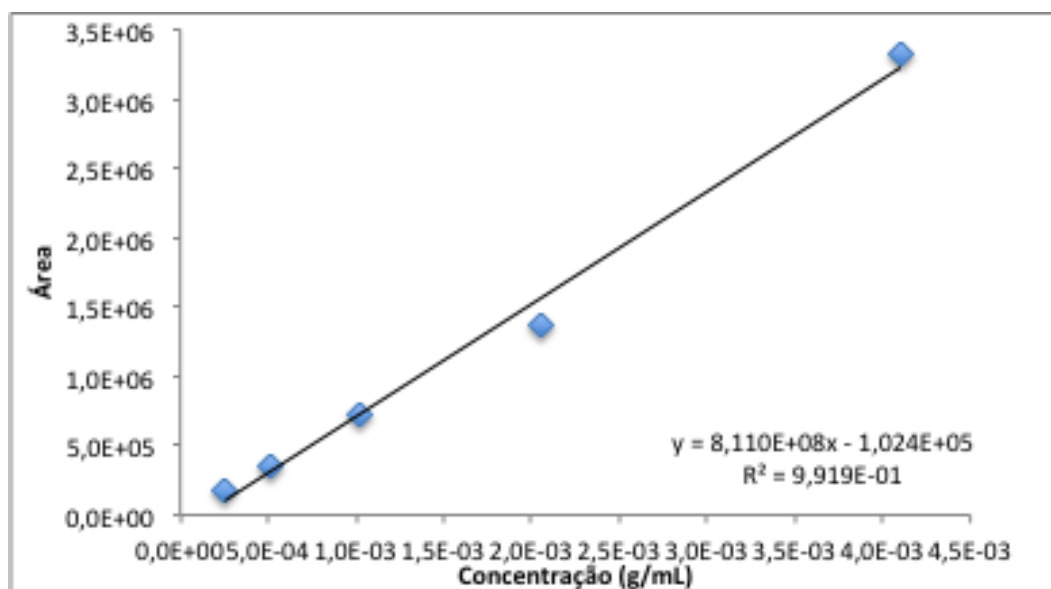


Gráfico 2: Reta de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero TEGMA

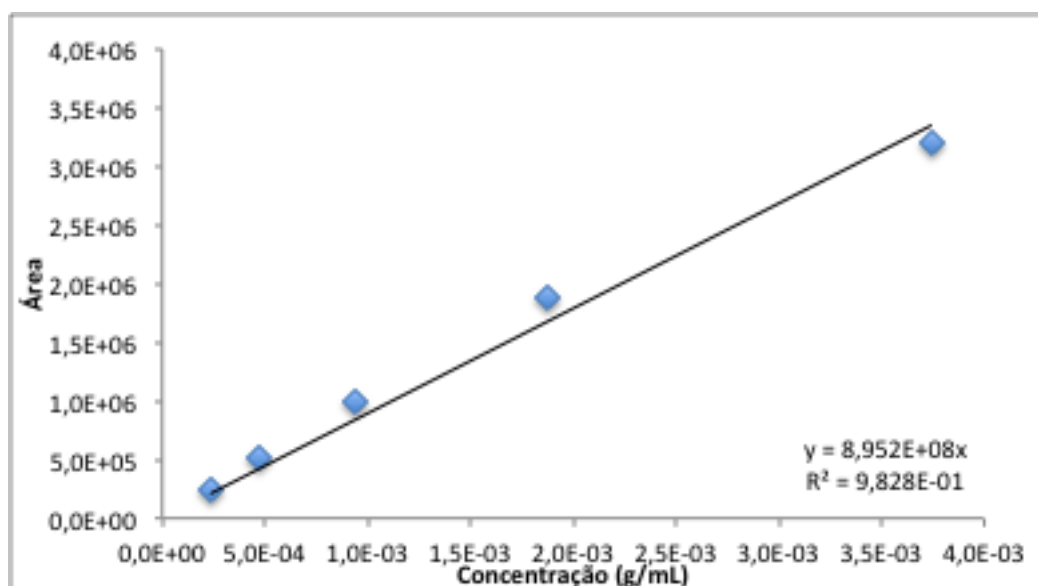


Gráfico 3: Retas de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero MMA.

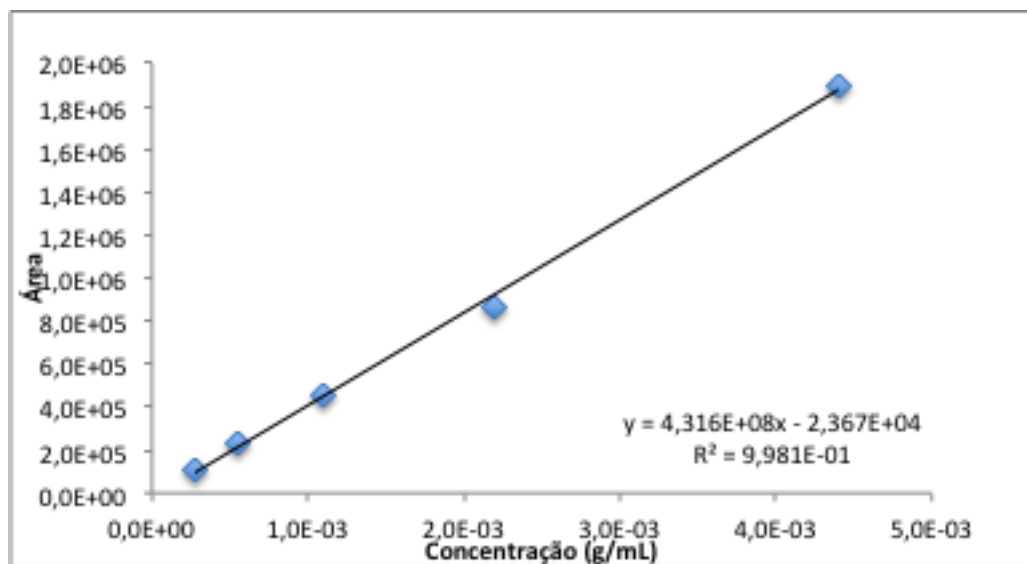


Gráfico 4: Retas de calibração com a variação de área vs. concentração do monómero UDMA.

3. CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS

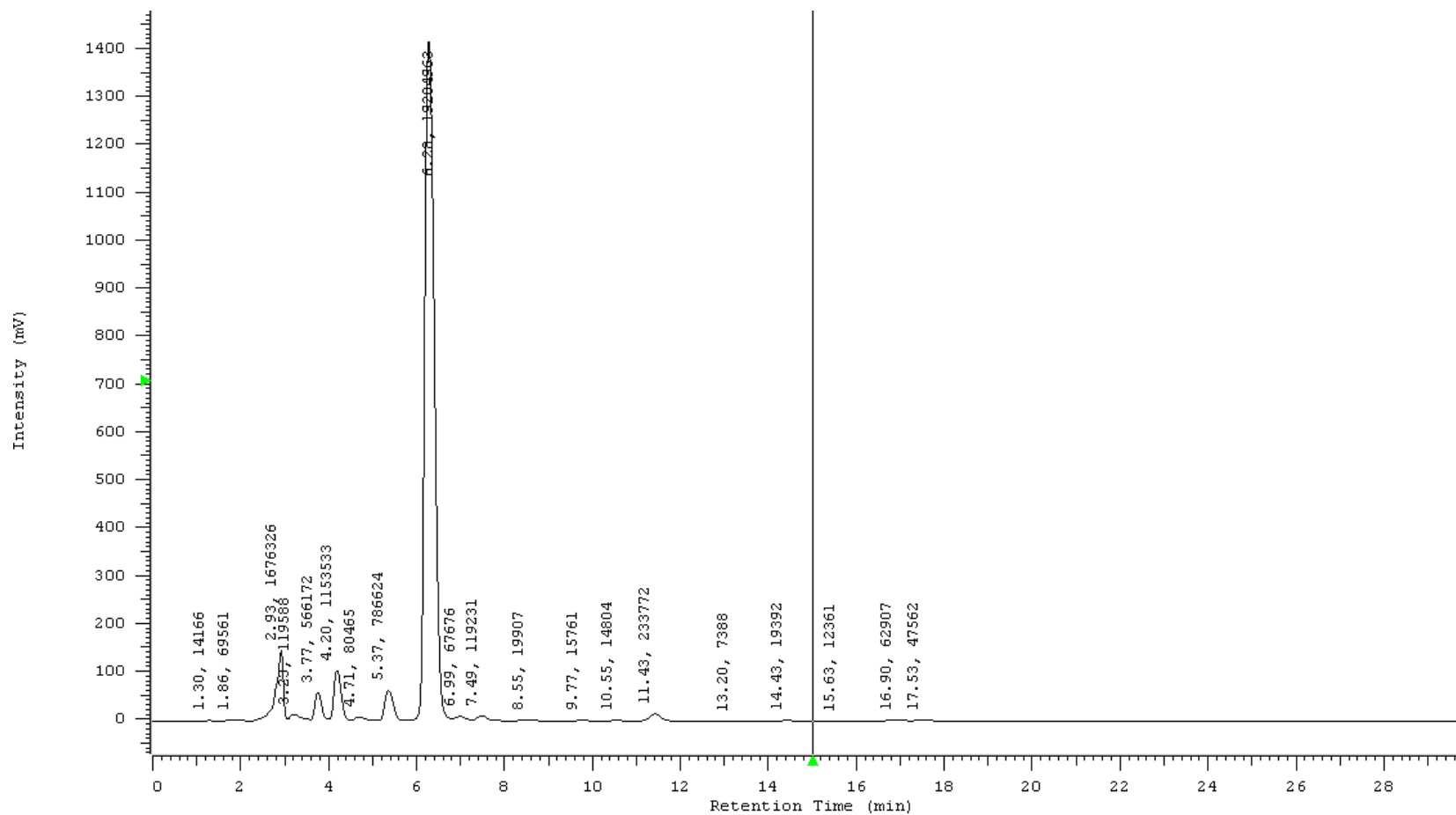


Figura 7: Cromatograma correspondente à amostra iiRA1 com indicação dos tempos de retenção e área de cada pico: $t_r = 4,20$ minutos e área 1153533 correspondente ao TEGMA; e $t_r = 5,37$ minutos e área 786624 correspondente ao MMA.

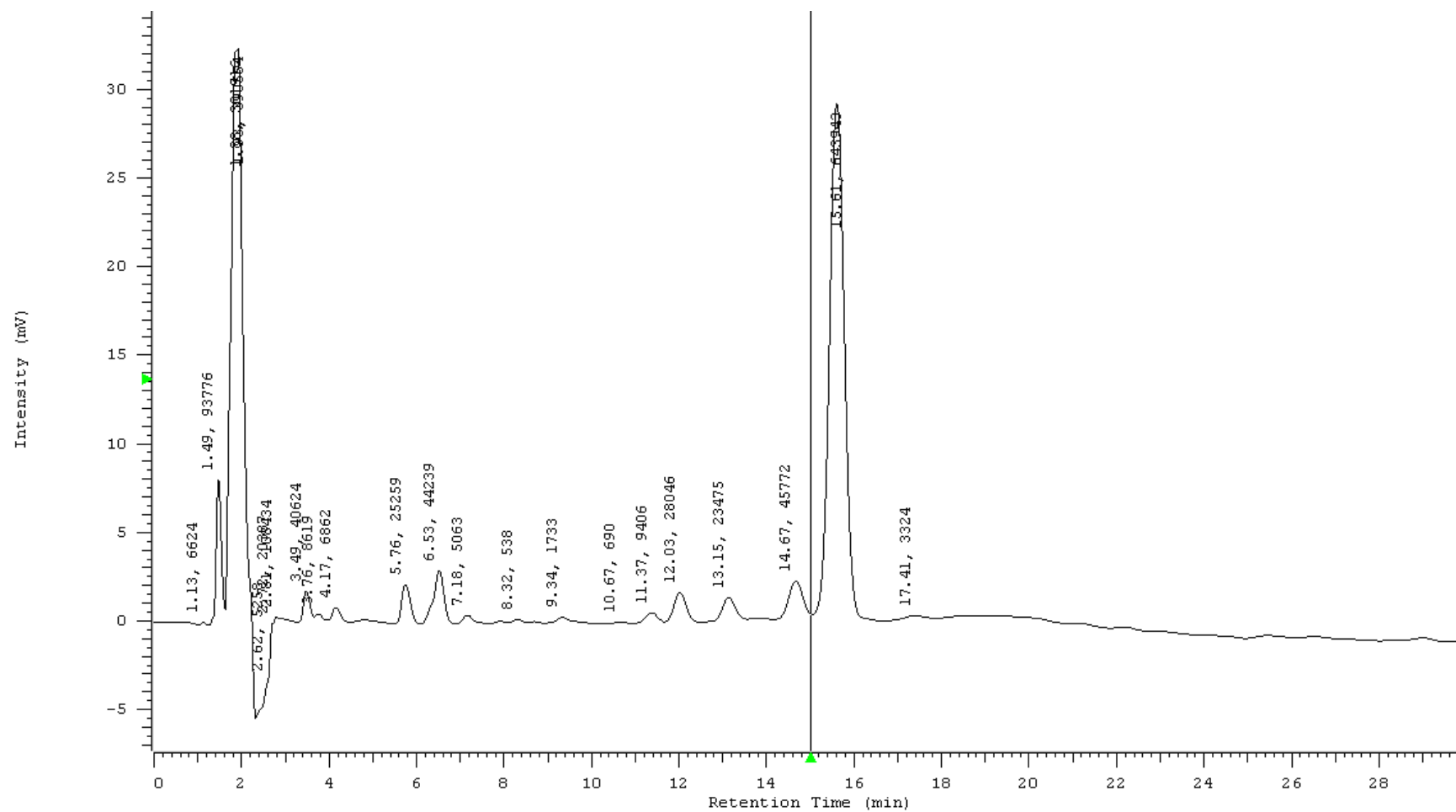


Figura 8: Cromatograma correspondente à amostra iiiRB1, com indicação dos tempos de retenção e área de cada pico: $t_r = 4,17$ minutos e área 6862 correspondente ao TEGMA; $t_r = 9,34$ minutos e área 1773 correspondente ao UDMA.

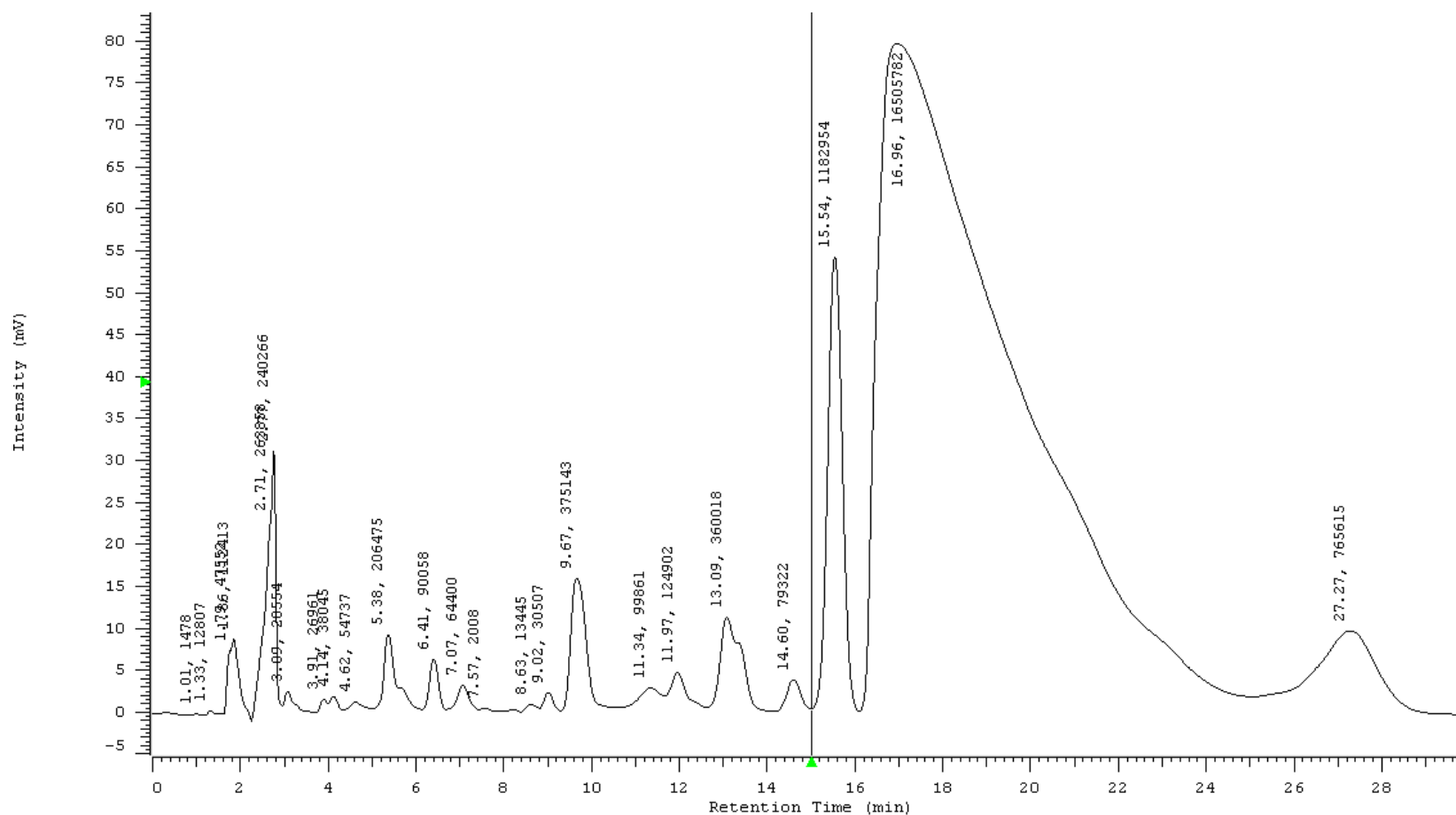


Figura 9: Cromatograma correspondente à amostra iiRC1 com indicação dos tempos de retenção e área de cada pico: $t_r = 4.14$ minutos e área 38045 correspondente ao TEGMA; $t_r = 5.38$ minutos e área 206475 correspondente ao MMA; e $t_r = 9.02$ minutos e área 30507 correspondente ao UDMA.

4. TRATAMENTO DE DADOS

Resina	Amostra	Monómero	Tempo Retenção	Área	Concentração (g/mL)
A	iRA1	TEGMA	4,33	1152669	1,55E-03
A	iRA1	MMA	5,58	773969	8,65E-04
A	iiRA1	TEGMA	4,2	1153533	1,55E-03
A	iiRA1	MMA	5,37	786624	8,79E-04
A	iiiRA1	TEGMA	4,2	1095501	1,48E-03
A	iiiRA1	MMA	5,37	720247	8,05E-04
A	iRA7	TEGMA	4,23	962233	1,31E-03
A	iRA7	MMA	5,44	841913	9,40E-04
A	iiRA7	TEGMA	4,19	1152435	1,55E-03
A	iiRA7	MMA	5,36	952761	1,06E-03
A	iiiRA7	TEGMA	4,18	966294	1,32E-03
A	iiiRA7	MMA	5,33	726389	8,11E-04
A	iRA14	TEGMA	4,34	941637	1,29E-03
A	iRA14	MMA	5,61	894075	9,99E-04
A	iiRA14	TEGMA	4,18	894797	1,23E-03
A	iiRA14	MMA	5,32	1121852	1,25E-03
A	iiiRA14	TEGMA	4,17	1010067	1,37E-03
A	iiiRA14	MMA	5,31	775292	8,66E-04

Tabela 4: Dados referentes aos cromatogramas das amostras da resina A (TAB 2000®): tempos de retenção e áreas associadas aos picos; conversão das áreas para concentração dos monómeros na amostra.

Resina	Amostra	Monómero	Tempo Retenção	Área	Concentração (g/mL)
B	iRB1	TEGMA	4,15	7870	1,35E-04
B	iRB1	UDMA	-	0	0
B	iiRB1	TEGMA	4,13	18017	1,49E-04
B	iiRB1	UDMA	9,19	889	5,69E-05
B	iiiRB1	TEGMA	4,17	6862	1,31E-04
B	iiiRB1	UDMA	9,34	1733	5,88E-05
B	iRB7	TEGMA	4,1	40361	1,76E-04
B	iRB7	UDMA	9,27	3901	6,38E-05
B	iiRB7	TEGMA	4,12	31653	1,65E-04
B	iiRB7	UDMA	9,25	461	5,59E-05
B	iiiRB7	TEGMA	4,11	44572	1,81E-04
B	iiiRB7	UDMA	9,18	1924	5,93E-05
B	iRB14	TEGMA	4,14	48870	1,87E-04
B	iRB14	UDMA	9,25	4770	6,58E-05
B	iiRB14	TEGMA	4,11	50663	1,89E-04
B	iiRB14	UDMA	9,23	2537	6,07E-05
B	iiiRB14	TEGMA	4,08	52206	1,91E-04
B	iiiRB14	UDMA	9,15	2128	5,97E-05

Tabela 5: Dados referentes aos cromatogramas das amostras da resina B (Protemp 4TM): tempos de retenção e áreas associadas aos picos; conversão das áreas para concentração dos monómeros na amostra.

Resina	Amostra	Monómero	Tempo Retenção	Área	Concentração (g/mL)
C	iRC1	TEGMA	4,15	52625	1,91E-04
C	iRC1	MMA	5,44	133798	1,49E-04
C	iRC1	UDMA	9,16	17693	9,58E-05
C	iiRC1	TEGMA	4,14	38045	1,73E-04
C	iiRC1	MMA	5,38	206475	2,31E-04
C	iiRC1	UDMA	9,02	30507	1,25E-04
C	iiiRC1	TEGMA	4,58	30338	1,64E-04
C	iiiRC1	MMA	5,38	70248	7,85E-05
C	iiiRC1	UDMA	9,04	94521	2,74E-04
C	iRC7	TEGMA	4,15	30236	1,64E-04
C	iRC7	MMA	5,39	352664	3,94E-04
C	iRC7	UDMA	9,03	54813	1,82E-04
C	iiRC7	TEGMA	4,18	53832	1,93E-04
C	iiRC7	MMA	5,41	331310	3,70E-04
C	iiRC7	UDMA	9,05	31572	1,28E-04
C	iiiRC7	TEGMA	4,16	69742	2,12E-04
C	iiiRC7	MMA	5,38	470165	5,25E-04
C	iiiRC7	UDMA	9,00	103116	2,93E-04
C	iRC14	TEGMA	4,18	22381	1,54E-04
C	iRC14	MMA	5,39	365702	4,09E-04
C	iRC14	UDMA	9,01	37117	1,41E-04
C	iiRC14	TEGMA	4,22	31422	1,65E-04
C	iiRC14	MMA	5,41	288875	3,23E-04
C	iiRC14	UDMA	9,04	46020	1,61E-04
C	iiiRC14	TEGMA	4,28	39255	1,75E-04
C	iiiRC14	MMA	5,40	337675	3,77E-04
C	iiiRC14	UDMA	9,01	44736	1,58E-04

Tabela 6: Dados referentes aos cromatogramas das amostras da resina C (Structur 3[®]): tempos de retenção e áreas associadas aos picos; conversão das áreas para concentração dos monómeros na amostra.

Monómero	Tempo da Amostra (dias)	Concentração		
		Resina A	Resina B	Resina C
HEMA	1	0	0	0
HEMA	7	0	0	0
HEMA	14	0	0	0
TEGMA	1	1,52E-03	1,38E-04	1,76E-04
TEGMA	7	1,39E-03	1,74E-04	1,90E-04
TEGMA	14	1,30E-03	1,89E-04	1,65E-04
MMA	1	8,49E-04	0	1,53E-04
MMA	7	9,39E-04	0	4,30E-04
MMA	14	1,04E-03	0	3,69E-04
UDMA	1	0	3,86E-05	1,65E-04
UDMA	7	0	5,96E-05	2,01E-04
UDMA	14	0	6,21E-05	1,53E-04

Tabela 7: Tabela com as médias das concentrações (gmL^{-1}) dos monómeros HEMA, TEGMA, MMA e UDMA, nos três tempos de medição das amostras (1 dia, 7 dias e 14 dias), das resinas A, B e C.

4. GRÁFICOS DAS TAXAS DE LIBERTAÇÃO DOS MONÓMEROS

A partir das concentrações dos monómeros obtidas às 24 horas, 7 dias e 14 dias, fizeram-se gráficos das taxas de liberação para as três resinas, com base num modelo cinético enzimático (Gráficos 5 a 11).

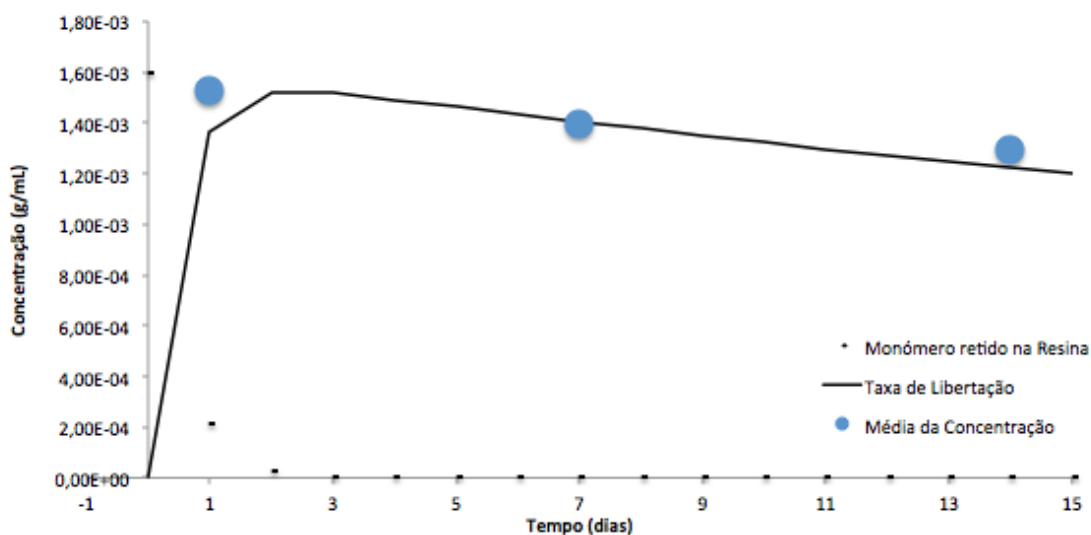


Gráfico 5: Gráfico da taxa de liberação do monómero TEGMA presente na resina A, ao longo do tempo.

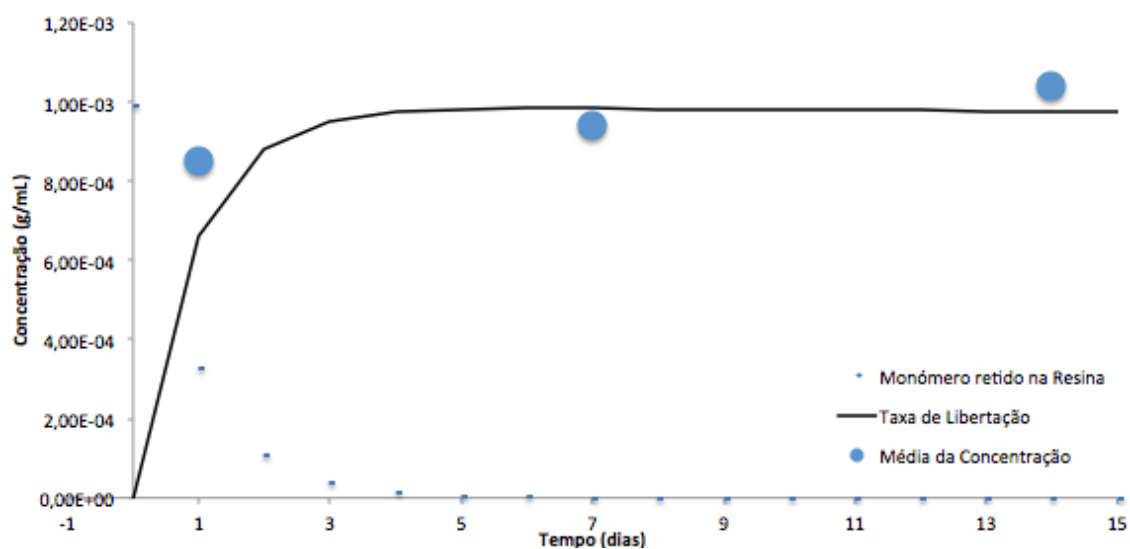


Gráfico 6: Gráfico da taxa de liberação do monômero MMA presente na resina A, ao longo do tempo.

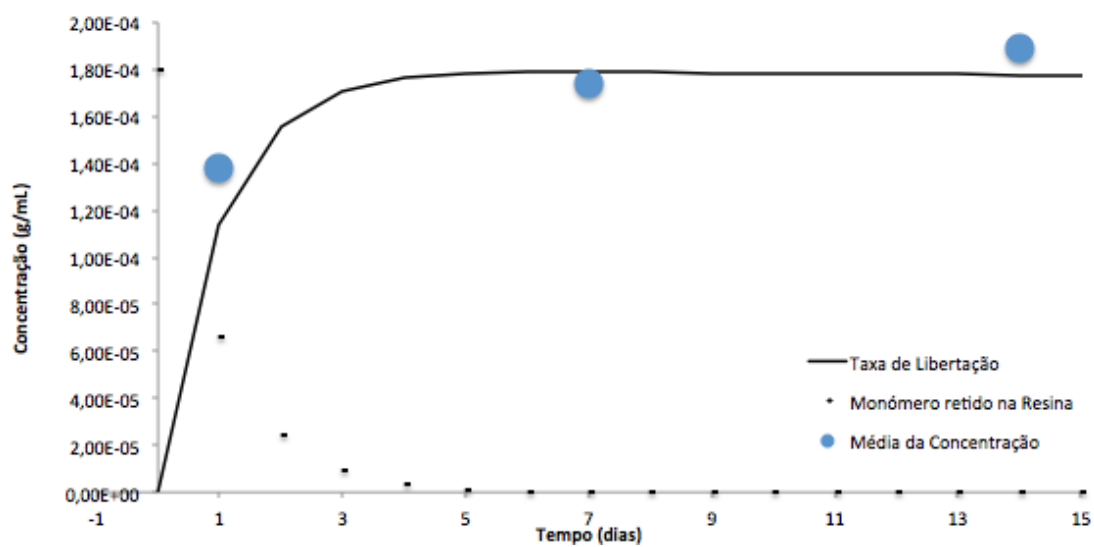


Gráfico 7: Gráfico da taxa de liberação do monômero TEGMA presente na resina B, ao longo do tempo.

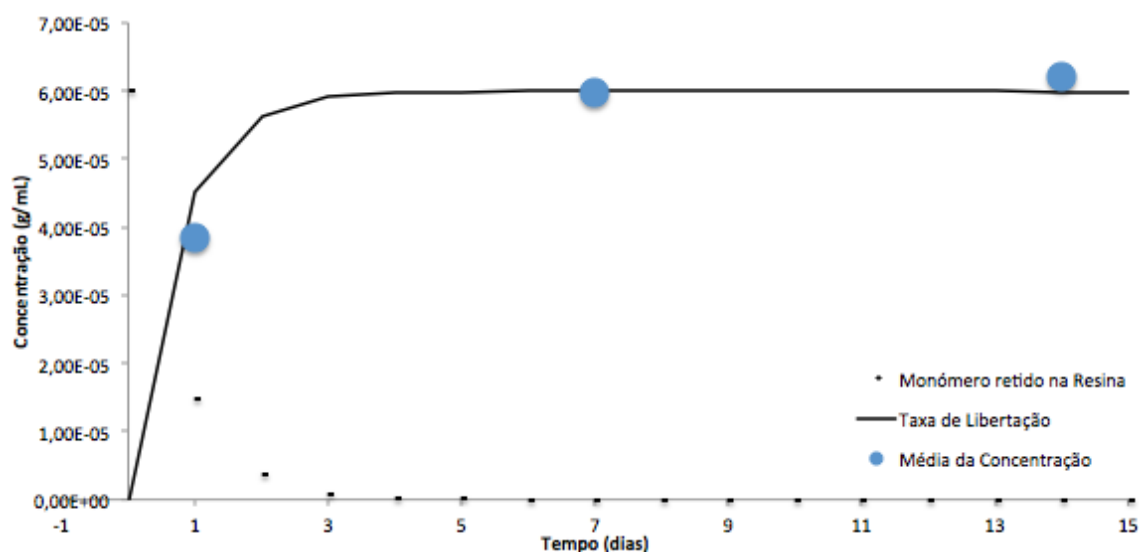


Gráfico 8: Gráfico da taxa de liberação do monômero UDMA presente na resina B, ao longo do tempo.

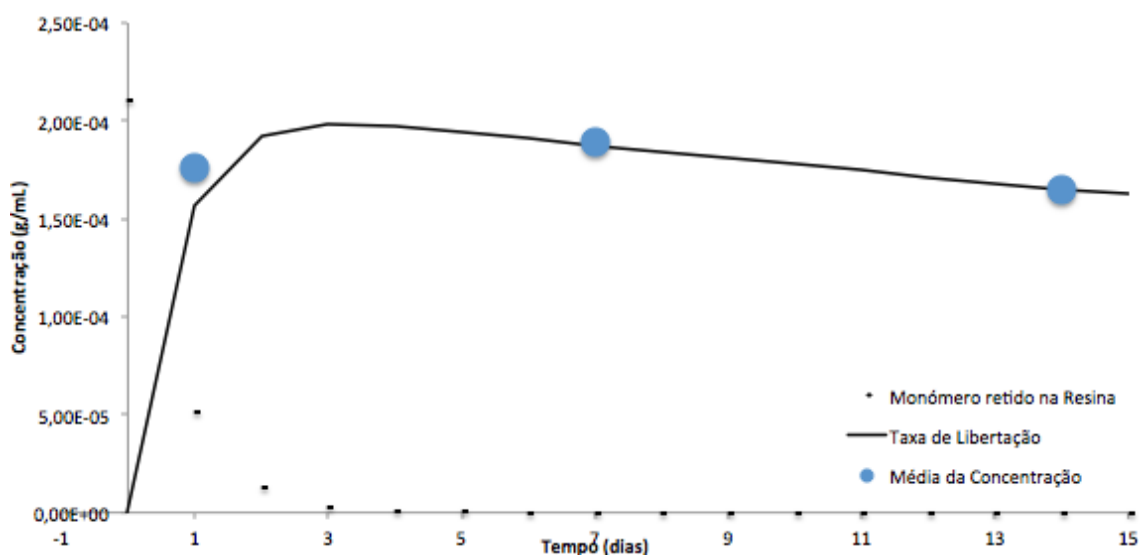


Gráfico 9: Gráfico da taxa de liberação do monômero TEGMA presente na resina C, ao longo do tempo.

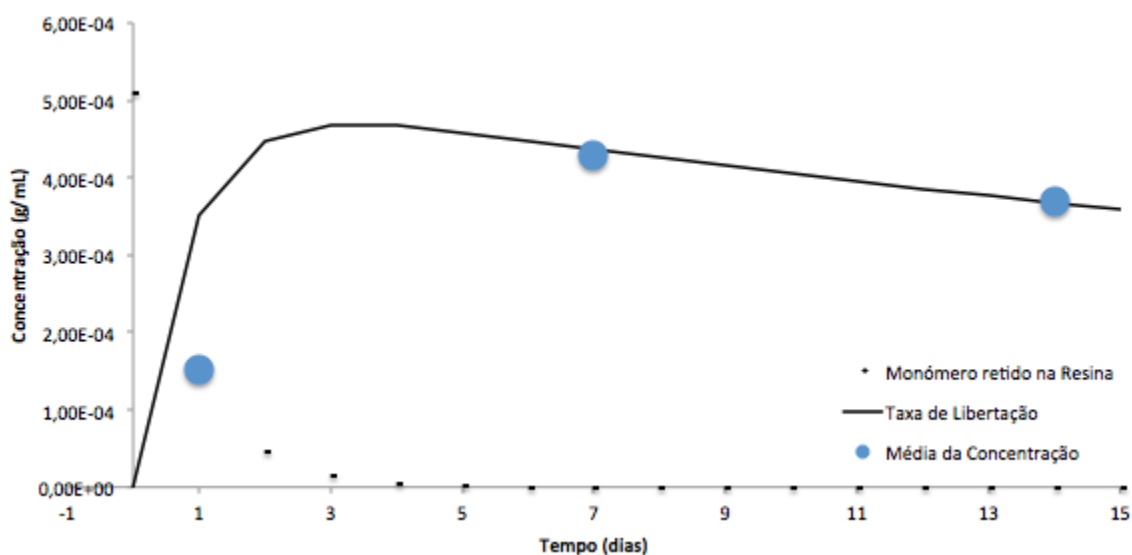


Gráfico 10: Gráfico da taxa de libertação do monómero MMA presente na resina C, ao longo do tempo.

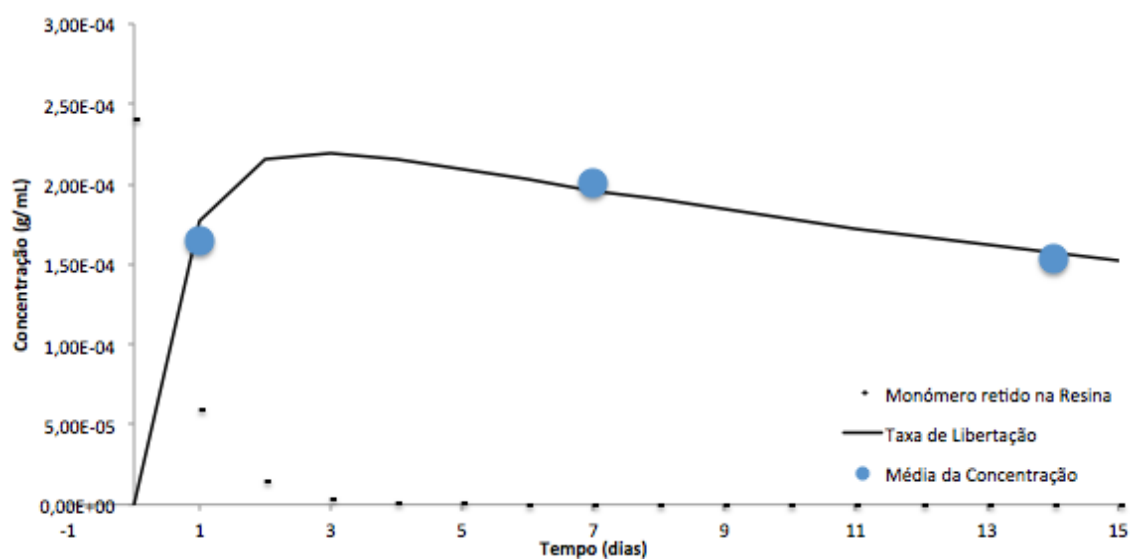


Gráfico 11: Gráfico da taxa de libertação do monómero UDMA presente na resina C, ao longo do tempo.

IV. DISCUSSÃO

Os materiais dentários tais como as resinas provisórias utilizadas em Medicina Dentária devem ser biocompatíveis para que desta forma não tenham efeitos nefastos ao nível dos tecidos orais.

Para avaliar a biocompatibilidade das resinas é necessário saber quais os seus constituintes, em que concentração são libertados e quais as suas taxas de libertação pois os monómeros presentes nestes polímeros têm efeitos citotóxicos. A eluição dos monómeros vai estar dependente da quantidade de composto libertado, o que está relacionado com a taxa de polimerização; tipo de solvente; tipo e natureza química dos monómeros; e composição das resinas nos demais compostos (Polydorou et al., 2009).

Uma vez que as marcas estão protegidas por patentes, a caracterização dos materiais torna-se mais difícil pelo que é necessário recorrer a ferramentas químicas que permitam a separação dos compostos, como o HPLC (Ulker et al., 2009; Van Landuyt et al., 2011).

No presente estudo fez-se a caracterização de três resinas dentárias utilizadas na confeção de restaurações provisórias em prótese fixa: TAB 2000[®] (Kerr), Protemp 4[™] (3M ESPE) e Structur 3[®] (VOCO), por HPLC.

As amostras de resina foram feitas recorrendo a um molde de alumínio para que não houvesse contaminação da amostra por parte de outros materiais, tais como os elastómeros. Os discos de resina foram polidos com discos de polimento, permitindo a remoção da camada superficial não polimerizada, e, por isso, com uma elevada quantidade de monómeros livres, que iria certamente alterar os resultados obtidos, mimetizando aquilo que ocorre em situações clínicas. As amostras foram mergulhadas na solução de 75% etanol/água após 30 minutos da sua polimerização para padronizar o protocolo e mais uma vez, se assemelhar à situação clínica (Balkenhol, Ferger, Mautner, & Wöstmann, 2007). A solução de 75% etanol/água, além de ser aquela que, segundo a

FDA, melhor mimetiza as condições orais, é também uma solução quimicamente estável e que impede a contaminação biológica (Polydorou et al., 2009; I. D. Sideridou & Achilias, 2005).

Para otimização do método de HPLC foram feitas análises cromatográficas das soluções padrão dos monómeros estudados: HEMA, TEGMA, MMA e UDMA, a diferentes concentrações de acetonitrilo. Após avaliação do cromatograma com a mistura de monómeros HEMA, TEGMA, MMA e UDMA em gradiente de concentração (Figura 5), foi feita uma média teórica da concentração de AcN que permitisse a visualização definida dos quatro picos correspondentes aos quatro monómeros. Assim, estipulou-se que uma fase móvel de AcN 55%, em método isocrático, a um comprimento de onda de 254 nm e temperatura constante de 30°C, seriam as condições ideais para o estudo.

Após análise dos cromatogramas com misturas de monómeros em pares: MMA/UDMA, HEMA/UDMA e MMA/TEGMA, obtiveram-se os tempos de retenção para cada um dos monómeros: 2,51 minutos para o HEMA; 4,10 minutos para o TEGMA; 5,40 minutos para o MMA; e 9,20 minutos para o UDMA (Figura 6).

Com base em concentrações conhecidas das soluções padrão e na análise da área dos picos dos monómeros HEMA, TEGMA, MMA e UDMA, foram feitas retas de calibração concentração vs. área (Gráfico 1 - 4), utilizadas mais tarde na determinação das concentrações das soluções dos monómeros eluídos das amostras das três resinas diferentes.

A análise por HPLC das soluções das amostras permitiram a obtenção de cromatogramas, gráficos com informação tempo vs. absorvância (Figura 7 - 9 e Anexos), cuja informação sobre a área de cada pico foi então convertida em concentração dos monómeros estudados. Apesar dos quatro monómeros estudados terem tempos de retenção inferiores a 10 minutos, foram feitas corridas de 30 minutos, para cada amostra estudada, para que desta forma fosse possível observar a eluição do máximo de componentes das resinas. O número de compostos diferentes traduz-se pelo

número de picos presentes no cromatograma, sendo que alguns destes picos podem corresponder a isômeros e homólogos dos monómeros estudados (I. D. Sideridou & Achilias, 2005).

Após revisão bibliográfica conclui-se que não existem estudos publicados que caracterizem as resinas avaliadas no presente trabalho, mas apenas resinas compostas utilizadas em restaurações em Dentisteria Resturadora. Estas assemelham-se quimicamente às resinas compostas Protemp 4TM e Structur 3[®], objeto deste estudo .

Com base neste estudo, verifica-se que nenhuma das resinas avaliadas tem na sua constituição o monómero HEMA mas que todas elas apresentam TEGMA. É na resina TAB 2000[®] que há uma maior eluição do monómero TEGMA, tanto às 24 horas, como aos 7 dias e 14 dias. A resina acrílica TAB 2000[®] e a resina composta Structur 3[®] têm na sua constituição o monómero MMA, sendo que também é na TAB 2000[®] que este monómero mais elui, nos três tempos estudados. As duas resinas compostas estudadas, Protemp 4TM e Structur 3[®], têm na sua constituição UDMA, sendo a Structur 3[®] aquela que mais liberta o monómero, nos três tempos estudados (Tabela 7).

A TAB 2000[®], por ser uma resina acrílica à base de monometacrilatos, não apresenta muitas ligações de *crosslink* na sua estrutura e, por isso, o polímero estabiliza-se com ligações mais fracas comparativamente com as resinas compostas bis-acrílicas (Balkenhol, Knapp, et al., 2008). Esta poderá ser uma das razões pelas quais a TAB 2000[®] é, das resinas estudadas, aquela que apresenta uma maior eluição dos seus constituintes.

O TEGMA, para além de ser, dos monómeros estudados, o único que está presente nas três resinas, é também aquele que apresenta maior concentração nas resinas TAB 2000[®] e Protemp 4TM, comparativamente com os monómeros MMA e UDMA, respetivamente (Tabela 7). Isto provavelmente deve-se ao facto do TEGMA ser um monómero pequeno e por isso com tendência a eluir mais, comparativamente com moléculas maiores (Polydorou, Trittler, Hellwig, & Kummerer, 2007). Na revisão meta analítica de

Landuyt et al., conclui-se que os monómeros mais libertados pelas resinas compostas são o HEMA, seguido de TEGMA, UDMA e Bis-GMA, principalmente em solventes orgânicos como acontece neste estudo (Van Landuyt et al., 2011).

A partir dos gráficos das taxas de libertação, verifica-se que a concentração dos monómeros atinge valores elevados nas primeiras 24 horas, que aumentam ligeiramente até aos 7 dias, onde se verifica a concentração máxima dos tempos medidos (Gráficos 6-9 e 11). No caso do TEGMA presente na resina TAB 2000® (Gráfico 5) e do MMA na resina Structur 3® (Gráfico 10), este padrão já não se observa: a concentração máxima de TEGMA na resina TAB 2000® é às 24 horas; e a concentração de MMA na resina Structur 3® aos 7 dias é mais do dobro da medida às 24 horas, tendo a concentração deste monómero aumentado muito mais neste caso em comparação com os restantes. Entre os 7 e os 14 dias ocorre uma diminuição da concentração de TEGMA nas resinas TAB 2000® e Structur 3® (Gráficos 5 e 9, respetivamente), e de MMA e UDMA na resina Structur 3® (Gráficos 10 e 11, respetivamente); e um ligeiro aumento da concentração MMA na resina TAB 2000® (Gráfico 6), de TEGMA na resina Protemp 4™ (Gráfico 7) e UDMA na Protemp 4™ (Gráfico 8). Assim, é possível verificar que a libertação dos monómeros das resinas ocorre essencialmente nas primeiras 24 horas, sendo seguida de uma subida até aos 7 dias e o atingimento de uma fase estacionária em que há um equilíbrio, maior ou menor, entre os monómeros que vão sendo continuamente libertados das resinas e os monómeros não polimerizados, e por isso eluídos, que com o tempo se ligam à rede polimérica, formando ligações pós-polimerização (Balkenhol, Knapp, et al., 2008). Polydorou et al., verificaram também este aumento na eluição dos monómeros das resinas compostas estudadas entre as 24 horas e os 7 dias, e diminuição até aos 28 dias (Polydorou et al., 2009).

No estudo de Luís e Félix, verificou-se que a resina Structur 3® é a mais tóxica, seguida da TAB 2000® e da Protemp 4™, a menos tóxica das três (Luís & Félix, 2014). A Structur 3® é, das resinas analisadas neste estudo, aquela que contém três dos quatro monómeros avaliados e potencialmente tóxicos: TEGMA, MMA e UDMA. No entanto é prematuro extrapolar que a elevada toxicidade da resina advinha da soma individual

da toxicidade destes monómeros uma vez que a Structur 3[®] tem muitos outros constituintes desconhecidos, alguns deles certamente tóxicos também.

É provável que mais do que a toxicidade individual dos monómeros, seja a sinergia por eles criada, que torna as resinas tão tóxicas. Num estudo recente de Durner et al. (Durner et al., 2012), conclui-se que há um efeito sinérgico na toxicidade, quando se faz uma mistura de vários monómeros. Com base nos resultados obtidos nestes estudo, seria interessante não só verificar a toxicidade celular dos monómeros individualmente como das misturas presentes nestas resinas: TEGMA e MMA, mimetizando a TAB 2000[®]; TEGMA e UDMA, mimetizando a Protemp 4TM; e TEGMA, MMA e UDMA, mimetizando a Structur 3[®]. Verificar a presença e/ou ausência de outros monómeros seria também uma mais valia.

A concentração de TEGMA encontrada nas amostras das resinas TAB 2000[®] é de ordem 10^{-3} , nos três tempos estudados (tabela 7), sendo estes valores superiores aos necessários para induzir expressão da COX-2, tanto segundo o estudo de Lee (2006) como no de Chang (2012): no primeiro, concentrações entre os $2,86 \times 10^{-6} \text{ g mL}^{-1}$ e $1,14 \times 10^{-5} \text{ g mL}^{-1}$ ($0,1 - 0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), foram consideradas tóxicas; no segundo foram concentrações bem superiores, entre os $2,86 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ e $1,43 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$ ($1 - 5 \text{ mmol L}^{-1}$), aquelas que induziram efeitos tóxicos nas células estudadas mas que mesmo assim foram inferiores aos resultados obtidos no presente estudo. Como tal, o TEGMA libertado pela resina TAB 2000[®] é suficiente para poder induzir toxicidade celular.

A concentração de TEGMA encontrada nas amostras das resinas Protemp 4TM e Structur 3[®], $1,38 \times 10^{-4} - 1,89 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ e $1,65 \times 10^{-4} - 1,90 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$, respetivamente, nos três tempos estudados (tabela 7), é: superior à necessária para induzir expressão da COX-2 segundo o estudo de Lee (2006) já que, mais uma vez, uma concentração entre os $2,86 \times 10^{-6} \text{ g mL}^{-1}$ e $1,14 \times 10^{-5} \text{ g mL}^{-1}$ ($0,1 - 0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), é considerada tóxica; inferior à necessária para induzir a expressão da COX-2 segundo o estudo de Chang (2012), cuja concentração considerada tóxica é entre $2,86 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ e $1,43 \times 10^{-3} \text{ g mL}^{-1}$ ($1 - 5 \text{ mmol L}^{-1}$). Como tal, o TEGMA libertado pelas resinas Protemp 4TM e Structur 3[®] encontra-se em concentração tóxica segundo o estudo de Lee mas não segundo o estudo de Chang (H. H. Chang et al., 2012; D. H. Lee et al., 2006).

A concentração de UDMA encontrada nas amostras das resinas Protemp 4TM, $3,86 \times 10^{-5}$ - $6,21 \times 10^{-5} \text{ g mL}^{-1}$, nos três tempos estudados (tabela 7) é inferior àquela considerada tóxica no estudo de Chang et al.: $1,18 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ - $1,65 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ (0,25mM - 0,35mM) (Hsiao Hua Chang et al., 2014).

A concentração de UDMA encontrada nas amostras das resinas Structur 3[®] encontra-se no limiar de toxicidade de acordo com o estudo de Chang et al. Segundo os autores, a uma concentração de $1,18 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ (0,25mM), ocorre alteração da expressão de mRNA e da COX-2; e a uma concentração de $1,65 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ (0,35mM), ocorre apoptose das células. No presente estudo, a concentração de UDMA na resina Structur 3[®] foi de $1,65 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ às 24 horas, $2,01 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ aos 7 dias e $1,53 \times 10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ aos 14 dias (tabela 7). Assim, a qualquer um dos tempos estudados, a concentração do monómero UDMA é suficiente para induzir alteração da expressão de mRNA e COX-2 mas só nos primeiros 7 dias a concentração é suficiente para levar à apoptose celular (Hsiao Hua Chang et al., 2014).

As concentrações de MMA encontradas nas amostras das resinas TAB 2000[®] e Structur 3[®] são bastante superiores à concentração considerada tóxica no estudo de Yang e colegas: na TAB 2000[®] foram detectadas concentrações na ordem dos $10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$; na Structur 3[®] foram detectadas concentrações na ordem dos $10^{-5} \text{ g mL}^{-1}$ e nesse estudo, a doses tão baixas como $10^{-10} \text{ g mL}^{-1}$ ($9,33 \times 10^{-4} \mu\text{g mL}^{-1}$), o MMA mostrou-se citotóxico (Yang et al., 2003).

É de salientar que nas amostras referentes à resina Protemp 4TM, os cromatogramas têm uma oscilação de valores nos primeiros minutos (Figuras 10 a 33, Anexos), que poderá estar associada à injeção da amostra no HPLC, não sendo este um parâmetro controlável. Esta oscilação coincide como tempo de retenção do monómero HEMA ($t_r = 2,51$ minutos), obtida através da medição das soluções padrão (Figura 6). Desta forma, poderia ser feita uma otimização do método de HPLC, diminuindo a concentração de AcN da fase móvel, para que o monómero HEMA fosse eluído mais tarde e assim se poder concluir com certeza se este é ou não um dos constituintes da resina Protemp 4TM.

As resinas de PMMA (como a TAB 2000®) têm composições homogêneas mas as resinas compostas bis-acrílicas (como a Protemp 4™ e Structur 3®), por terem partículas orgânicas (Altintas et al., 2008) na sua constituição, são de mais difícil caracterização. Este pode ser um motivo pelo qual foi mais difícil identificar os constituintes nas resinas Protemp 4™ e Structur 3®, em relação à TAB 2000®: a quantidade de compostos presentes é muito maior nas resinas compostas o que se reflete em alguma sobreposição de picos nos cromatogramas.

No presente estudo só é possível fazer uma avaliação qualitativa e quantitativa dos monómeros HEMA, TEGMA, MMA e UDMA. No entanto é visível a presença de muitos outros constituintes nas resinas, eventuais monómeros e aditivos colocados pelos fabricantes, sendo que poderão estar ainda presentes outros compostos que se encontram fora dos limites detectáveis e quantificáveis de leitura.

É por isso de grande interesse, associar ao método de HPLC, o método de espectrometria de massa que permite a análise de compostos desconhecidos e determinar o seu peso molecular e estrutura química, sendo desta forma identificáveis (Polydorou et al., 2009). O protocolo utilizado neste estudo está preparado para a associação entre o método de HPLC e o de espectrometria de massa uma vez que a fase móvel utilizada, o acetonitrilo, é volátil, não contaminando a amostra.

Apesar das vantagens da utilização da solução 75% etanol/água supracitadas, o etanol tem uma maior capacidade em penetrar nas resinas compostas utilizadas em tratamento em Dentisteria Restauradora, comparativamente com outros meios de extração como a saliva artificial (Gul, Miloglu, & Akgul, 2014; Van Landuyt et al., 2011). Também os monómeros TEGMA e UDMA apresentam uma elevada solubilidade em etanol (I. D. Sideridou & Achilias, 2005). Assim, também nas resinas TAB 2000®, Protemp 4™ e Structur 3®, poderá ocorrer uma maior eluição dos monómeros na situação experimental do que clinicamente. Seria por isso cientificamente interessante, fazer um estudo comparativo das taxas de eluição de materiais provisórios utilizados em reabilitação fixa, em diferentes meios de extração.

V. CONCLUSÃO

Perante os resultados obtidos neste estudo pode-se aceitar a hipótese experimental: há diferenças no tipo, concentração e taxas de libertação dos monómeros constituintes das três resinas estudadas: resina de PMMA, TAB 2000[®]; resinas bis-acrílicas, Protemp 4TM e Structur 3[®].

- Nenhuma das resinas estudadas tem na sua constituição o monómero HEMA.
- As três resinas estudadas têm TEGMA.
- É TAB 2000[®] que o TEGMA mais elui, nos três tempos estudados.
- A resina acrílica TAB 2000[®] e a resina composta Structur 3[®] têm na sua constituição o monómero MMA.
- É na TAB 2000[®] que o MMA mais elui, nos três tempos estudados.
- As resinas compostas, Protemp 4TM e Structur 3[®], têm na sua constituição UDMA.
- É na Structur 3[®] que há uma maior libertação de UDMA, nos três tempos estudados.
- A variação da concentração média dos monómeros ocorre mais entre as 0 e as 24 horas, com exceção do MMA na resina Structur 3[®], cuja concentração aos 7 dias é mais do dobro da medida às 24 horas.
- É aos 7 dias que a concentração média dos monómeros é máxima, com exceção do TEGMA na resina TAB 2000[®], cuja concentração máxima é às 24 horas.
- As taxas de eluição dos monómeros tendem a seguir um padrão cinético enzimático, atingindo um relativo equilíbrio ao final de 7 dias, em que a concentração de monómeros eluídos não aumenta muito, podendo até mesmo diminuir.
- Os monómeros TEGMA e MMA libertados da resina TAB 2000[®] encontram-se em concentrações tóxicas.
- O monómero UDMA libertado pela resina Protemp 4TM, não se encontra em concentração tóxica.

- O monómero MMA libertado pela resina Structur 3[®], encontra-se em concentração tóxica; a concentração do monómero UDMA da mesma resina encontra-se em valores limiares de toxicidade, sendo considerado tóxico também.

Deverão ser feitos mais estudos com o objetivo de identificar os compostos presentes nas resinas, assim como avaliar a citotoxicidade dos monómeros que as constituem, quer isoladamente, quer agrupadamente.

VI. BIBLIOGRAFIA

- 3M. (2015). Obtido a 17 de Setembro de 2015, de <http://www.3m.com/>
- Altintas, S. H., Yondem, I., & Tak, O. (2008). Temperature rise during polymerization of three different provisional materials. *Clinical Oral Investigations*, 12, 283–286.
- Anusavice, K. J., Shen, C., & Rawls, H. R. (2012). Philips' Science of Dental Materials. In E. Saunders (Ed.), *Journal of Dentistry*, (12th editi). Missouri. Retrieved from <http://www.mendeley.com>
- Baldissara, P., Comin, G., Martone, F., & Scotti, R. (1998). Provisional Crowns. *Journal of Prosthetic Dentistry*, (80), 417–422.
- Balkenhol, M., Ferger, P., Mautner, M. C., & Wöstmann, B. (2007). Provisional crown and fixed partial denture materials: Mechanical properties and degree of conversion. *Dental Materials*, 23, 1574–1583.
- Balkenhol, M., Knapp, M., Ferger, P., Heun, U., & Wöstmann, B. (2008). Correlation between polymerization shrinkage and marginal fit of temporary crowns. *Dental Materials*, 24(11), 1575–1584.
- Balkenhol, M., Mautner, M. C., Ferger, P., & Wöstmann, B. (2008). Mechanical properties of provisional crown and bridge materials: Chemical-curing versus dual-curing systems. *Journal of Dentistry*, 36, 15–20.
- Bayindir, F., Kürklü, D., & Yanikoğlu, N. D. (2012). The effect of staining solutions on the color stability of provisional prosthodontic materials. *Journal of Dentistry*, 40S, 41–46.
- Becher, R., Kopperud, H. M., Al, R. H., Samuelsen, J. T., Morisbak, E., Dahlman, H. J., ... Dahl, J. E. (2006). Pattern of cell death after in vitro exposure to GDMA, TEGDMA, HEMA and two compomer extracts. *Dental Materials*, 22, 630–640.
- Bettencourt, A. F., Neves, C. B., de Almeida, M. S., Pinheiro, L. M., Oliveira, S. A. E., Lopes, L. P., & Castro, M. F. (2010). Biodegradation of acrylic based resins: A review. *Dental Materials*, 26, 171–180.

- Borzangy, S., Labban, N., & Windsor, L. J. (2013). Effects of interim acrylic resins on the expression of cytokines from epithelial cells and on collagen degradation. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 110, 296–302.
- Burns, D. R., Beck, D. A., & Nelson, S. K. (2003). A review of selected dental literature on contemporary provisional fixed prosthodontic treatment: Report of the Committee on Research in Fixed Prosthodontics of the Academy of Fixed Prosthodontics. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 90(5), 474–497.
- Chang, H. H., Chang, M. C., Huang, G. F., Wang, Y. L., Chan, C. P., Wang, T. M., ... Jeng, J. H. (2012). Effect of triethylene glycol dimethacrylate on the cytotoxicity, cyclooxygenase-2 expression and prostanoids production in human dental pulp cells. *International Endodontic Journal*, 45, 848–858.
- Chang, H. H., Chang, M. C., Wang, H. H., Huang, G. F., Lee, Y. L., Wang, Y. L., ... Jeng, J. H. (2014). Urethane dimethacrylate induces cytotoxicity and regulates cyclooxygenase-2, hemeoxygenase and carboxylesterase expression in human dental pulp cells. *Acta Biomaterialia*, 10, 722–731.
- Donaldson, D. (1973). Gingival recession associated with temporary crowns. *The Journal of Periodontology*, 44(11), 691–696.
- Durner, J., Wellner, P., Hickel, R., & Reichl, F. X. (2012). Synergistic interaction caused to human gingival fibroblasts from dental monomers. *Dental Materials*, 28(8), 818–823.
- Emmler, J., Seiss, M., Kreppel, H., Reichl, F. X., Hickel, R., & Kehe, K. (2008). Cytotoxicity of the dental composite component TEGDMA and selected metabolic by-products in human pulmonary cells. *Dental Materials*, 24, 1670–1675.
- Floyd, C. J. E., & Dickens, S. H. (2006). Network structure of Bis-GMA- and UDMA-based resin systems. *Dental Materials*, 22(12), 1143–1149.
- Gautam, R., Singh, R. D., Sharma, V. P., Siddhartha, R., Chand, P., & Kumar, R. (2012). Biocompatibility of polymethylmethacrylate resins used in dentistry. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 100 B(5), 1444–1450.
- Geurtsen, W., Lehmann, F., Spahl, W., & Leyhausen, G. (1998). Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human

- primary fibroblast cultures. *Journal of Biomedical Materials Research*, 41, 474–480.
- Gonçalves, F., Kawano, Y., Pfeifer, C., Stansbury, J. W., & Braga, R. R. (2009). Influence of BisGMA, TEGDMA, and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites. *European Journal of Oral Sciences*, 117, 442–446.
- Gul, P., Miloglu, F. D., & Akgul, N. (2014). HPLC Analysis of Eluted Monomers From Dental Composite Using Different Immersion Media. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 37, 155–170.
- Kerby, R. E., Knobloch, L. a., Sharples, S., & Peregrina, A. (2013). Mechanical properties of urethane and bis-acryl interim resin materials. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 110(1), 21–28.
- Kim, S. H., & Watts, D. C. (2004a). Exotherm behavior of the polymer-based provisional crown and fixed partial denture materials. *Dental Materials*, 20, 383–387.
- Kim, S. H., & Watts, D. C. (2004b). Polymerization shrinkage-strain kinetics of temporary crown and bridge materials. *Dental Materials*, 20(1), 88–95.
- Kim, S. H., & Watts, D. C. (2007). In vitro study of edge-strength of provisional polymer-based crown and fixed partial denture materials. *Dental Materials*, 23(12), 1570–1573.
- Krifka, S., Spagnuolo, G., Schmalz, G., & Schweikl, H. (2013). A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials*, 34(19), 4555–4563.
- Lee, D. H., Kim, N. R., Lim, B. S., Lee, Y. K., & Yang, H. C. (2009). Effects of TEGDMA and HEMA on the expression of COX-2 and iNOS in cultured murine macrophage cells. *Dental Materials*, 25, 240–246.
- Lee, D. H., Lim, B. S., Lee, Y. K., Ahn, S. J., & Yang, H. C. (2006). Involvement of oxidative stress in mutagenicity and apoptosis caused by dental resin monomers in cell cultures. *Dental Materials*, 22, 1086–1092.

- Lee, S.-Y., Lai, Y.-L., & Hsu, T.-S. (2002). Influence of polymerization conditions on monomer elution and microhardness of autopolymerized polymethyl methacrylate resin. *European Journal of Oral Sciences*, 110(2), 179–183.
- Leggat, P. a, & Kedjarune, U. (2003). Toxicity of methyl methacrylate in dentistry. *International Dental Journal*, 53, 126–131.
- Lemon, M. T., Jones, M. S., & Stansbury, J. W. (2007). Hydrogen bonding interactions in methacrylate monomers and polymers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, (83), 734–746.
- Lepe, X., Bales, D. J., & Johnson, G. H. (1999). Retention of provisional crowns fabricated from two materials with the use of four temporary cements. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 81(4), 469–475.
- Luís, A. R., & Félix, S. (2014). Estudo in vitro do grau de citotoxicidade de resinas acrílicas usadas na confecção de coroas provisórias. *Instituto Superior De Ciências Da Saúde Egas Moniz*.
- Luthardt, R. G., Stöbel, M., Hinz, M., & Vollandt, R. (2000). Clinical performance and periodontal outcome of temporary crowns and fixed partial dentures: A randomized clinical trial. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 83, 32–39.
- Mathur, S., Shah, A., Makwana, R., Shah, M., Shah, A., & Jathal, N. (2014). Provisional Restorative Materials in Fixed Prosthodontics: A Comprehensive Review. *Bujod*, 3(3), 49–57.
- Michalakis, K., Pissiotis, A., Hirayama, H., Kang, K., & Kafantaris, N. (2006). Comparison of temperature increase in the pulp chamber during the polymerization of materials used for the direct fabrication of provisional restorations. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 96(6), 418–423.
- Patras, M., Naka, O., Doukoudakis, S., & Pissiotis, A. (2012). Management of Provisional Restorations' Deficiencies : A Literature Review. *J Esthet Resto Dent*, 24, 26–39.
- Pemberton, M. a., & Lohmann, B. S. (2014). Risk Assessment of residual monomer migrating from acrylic polymers and causing Allergic Contact Dermatitis during normal handling and use. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 69, 467–475.

- Peutzfeldt, A. (1997). Resin composites in dentistry: the monomer systems. *European Journal of Oral Sciences*, 105(2), 97–116.
- Polydorou, O., König, A., Hellwig, E., & Kümmerer, K. (2009). Long-term release of monomers from modern dental-composite materials. *European Journal of Oral Sciences*, 117, 68–75.
- Polydorou, O., Trittler, R., Hellwig, E., & Kummerer, K. (2007). Elution of monomers from two conventional dental composite materials. *Dental Materials*, 23(12), 1535–1541.
- Poonacha, V., Poonacha, S., Salagundi, B., Rupesh, P.-L., & Raghavan, R. (2013). In vitro comparison of flexural strength and elastic modulus of three provisional crown materials used in fixed prosthodontics. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 5(5), 212–217.
- Rakhshan, V. (2014). Marginal integrity of provisional resin restoration materials: A review of the literature. *The Saudi Journal for Dental Research*, 6, 33–40.
- Schillenburg, H. T., Sather, D. A., Wilson, E. L., Cain, J. R., Mitchell, D. L., Blanco, L. J., & Kessler, J. C. (2012). *Fundamentals of Fixed Prosthodontics*. (and W. Chicago, Berlin, Tokyo, London, Paris, Milan, Barcelona, Istanbul, Moscow, New Delhi, São Paulo, Ed.) (4th ed.). Quintessence Publishing Co, Inc.
- Schweikl, H., Spagnuolo, G., & Schmalz, G. (2006). Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *Journal of Dental Research*, 85(10), 870–877.
- Sham, A. S. K., Chu, F. C. S., Chai, J., & Chow, T. W. (2004). Color stability of provisional prosthodontic materials. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 91(5), 447–452.
- Sideridou, I. D., & Achilias, D. S. (2005). Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 617–626. Retrieved from www.interscience.wiley.com
- Sideridou, I. D., & Papanastasiou, G. E. (2007). Sorption of Binary Liquid Mixtures in Methacrylate- Based Biomaterials ; Simultaneous Determination of the Diffusion Coefficients and the Uptake Fraction at Equilibrium of the Components of

- Ethanol-Water Mixtures by a New Iterative Method. *Journal of Applied Polymer Science*, 107, 1057–1066.
- Sideridou, I., Tserki, V., & Papanastasiou, G. (2002). Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*, 23, 1819–1829.
- Stansbury, J. W. (2012). Dimethacrylate network formation and polymer property evolution as determined by the selection of monomers and curing conditions. *Dental Materials*, 28, 13–22.
- Ulker, M., Ulker, H. E., Zortuk, M., Bulbul, M., Tuncdemir, A. R., & Bilgin, M. S. (2009). Effects of current provisional restoration materials on the viability of fibroblasts. *European Journal of Dentistry*, 3, 114–119.
- Van Landuyt, K. L., Nawrot, T., Geebelen, B., De Munck, J., Snauwaert, J., Yoshihara, K., Van Meerbeek, B. (2011). How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dental Materials*, 27, 723–747.
- Wassell, R. W., George, G. St., Ingledew, R. P., & Steele, J. G. (2002). Crowns and other extra-coronal restorations: resin-bonded metal restorations. *British Dental Journal*, 192(11), 619–630.
- Yang, H. W., Chou, L. S. S., Chou, M. Y., & Chang, Y. C. (2003). Assessment of genetic damage by methyl methacrylate employing in vitro mammalian test system. *Biomaterials*, 24, 2909–2914.
- Zach, L., & Cohen, G. (1965). Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 19, 515–530.

VII. ANEXOS

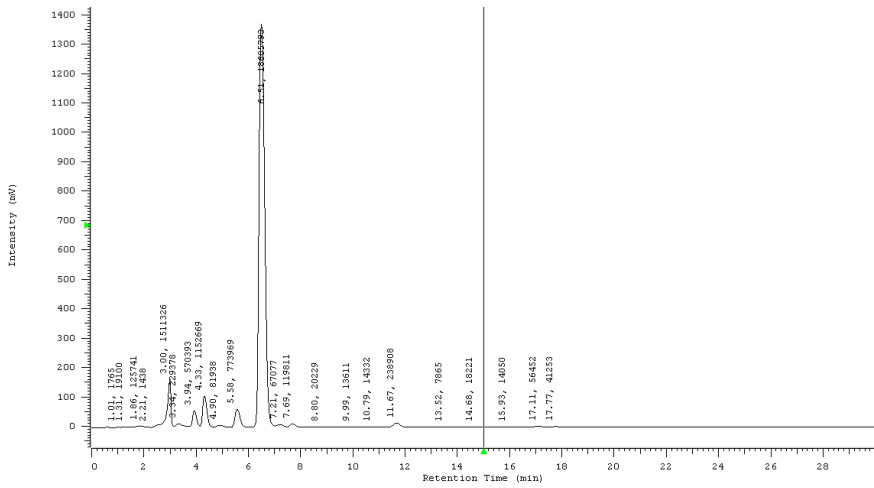


Figura 10: Cromatograma correspondente à amostra iRA1.

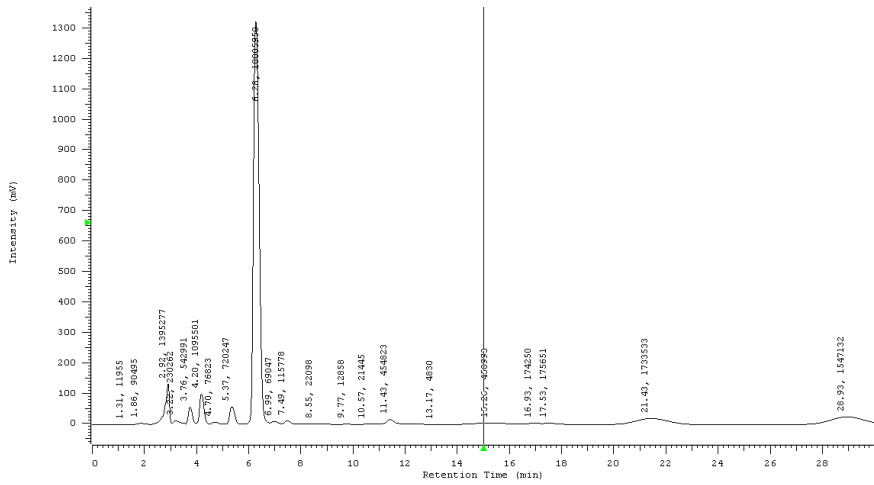


Figura 11: Cromatograma correspondente à amostra iiiRA1.

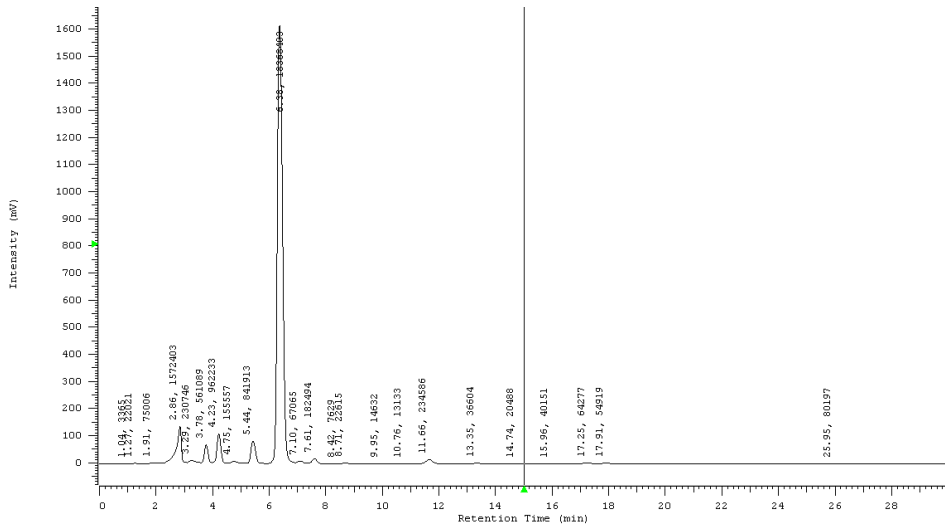
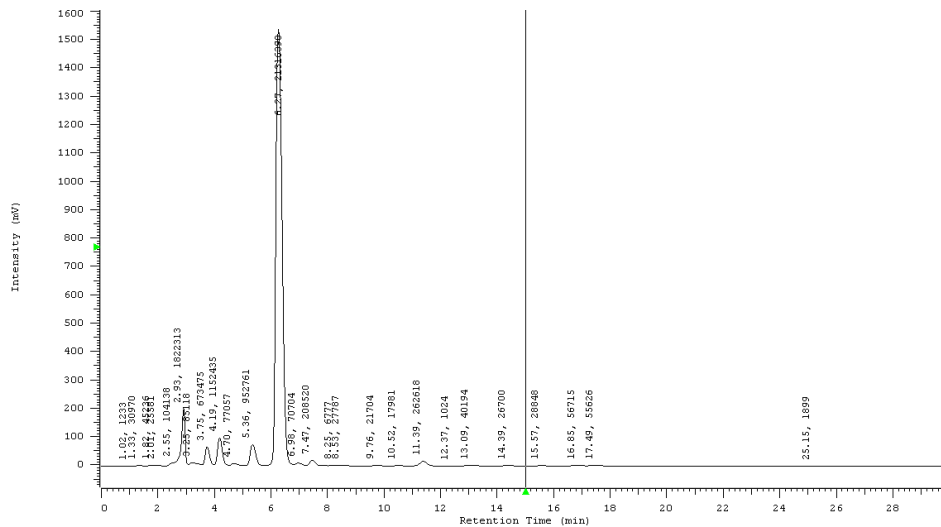


Figura 12: Cromatograma correspondente à amostra iRA7.



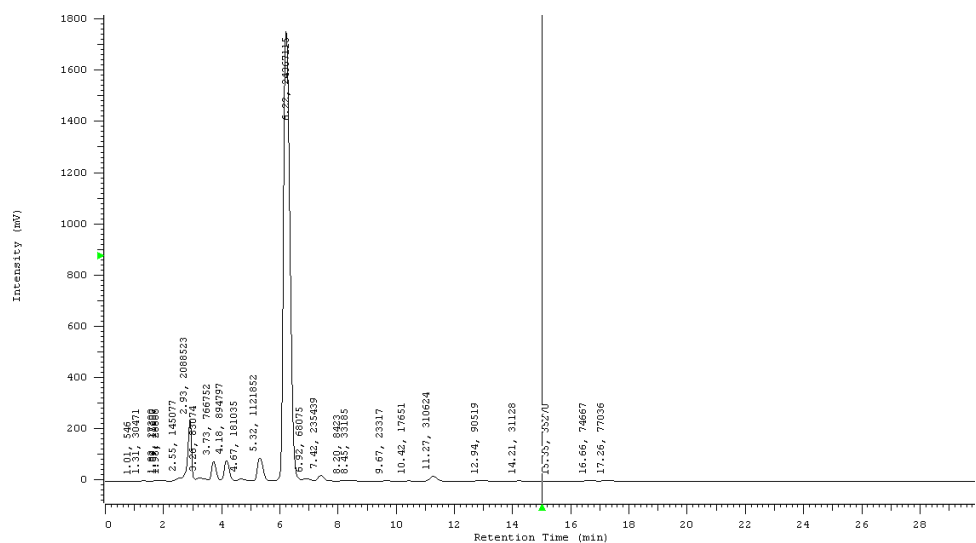


Figura 16: Cromatograma correspondente à amostra iiRA14.

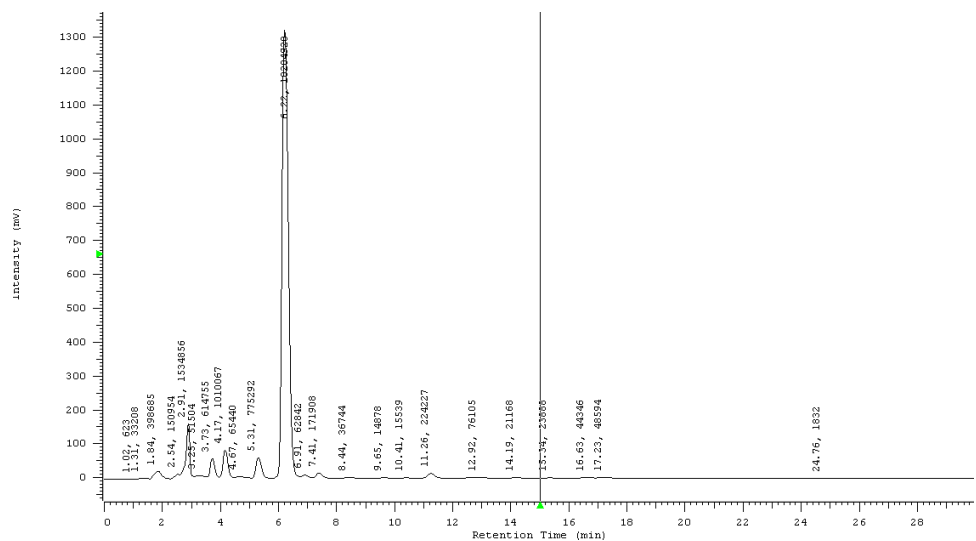


Figura 17: Cromatograma correspondente à amostra iiiRA14.

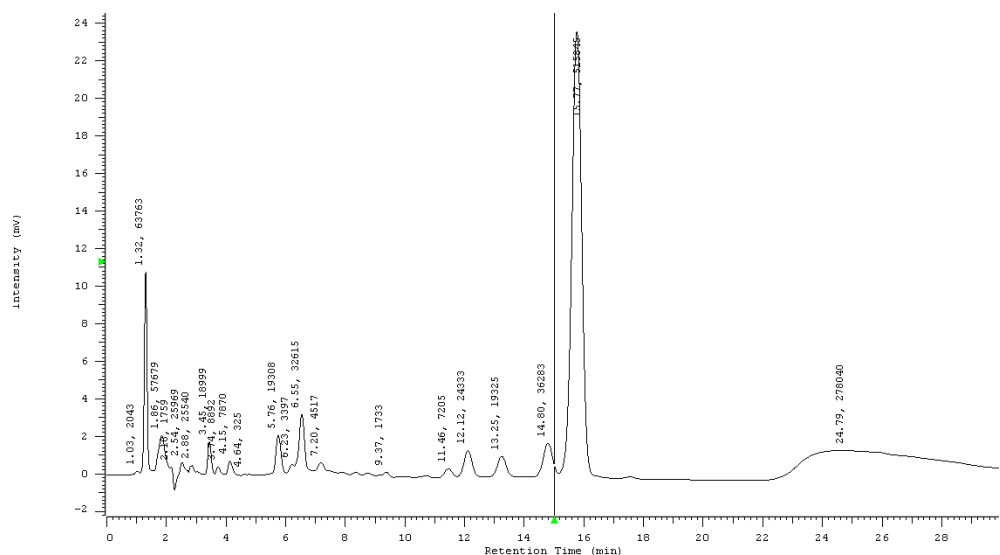


Figura 18: Cromatograma correspondente à amostra iRB1.

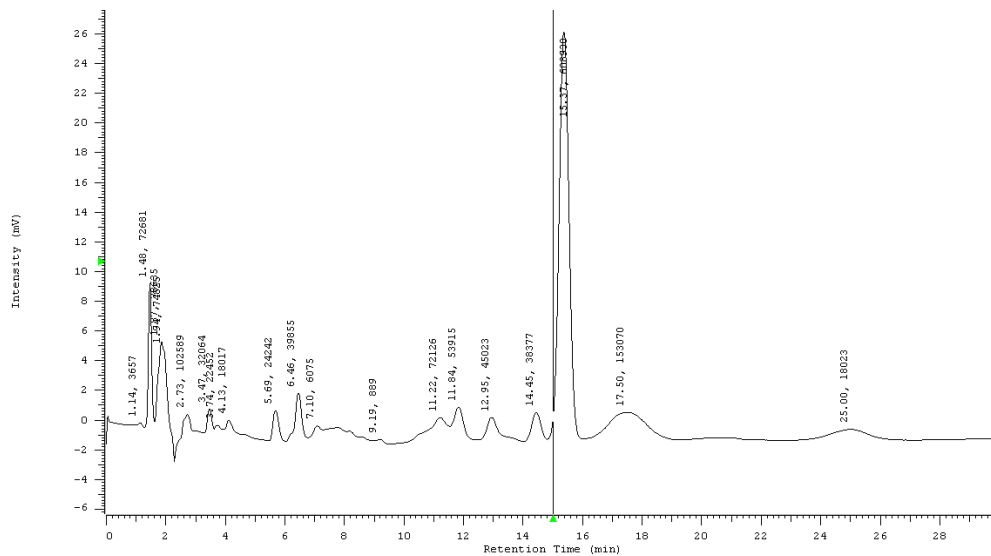


Figura 19: Cromatograma correspondente à amostra iiRB1.

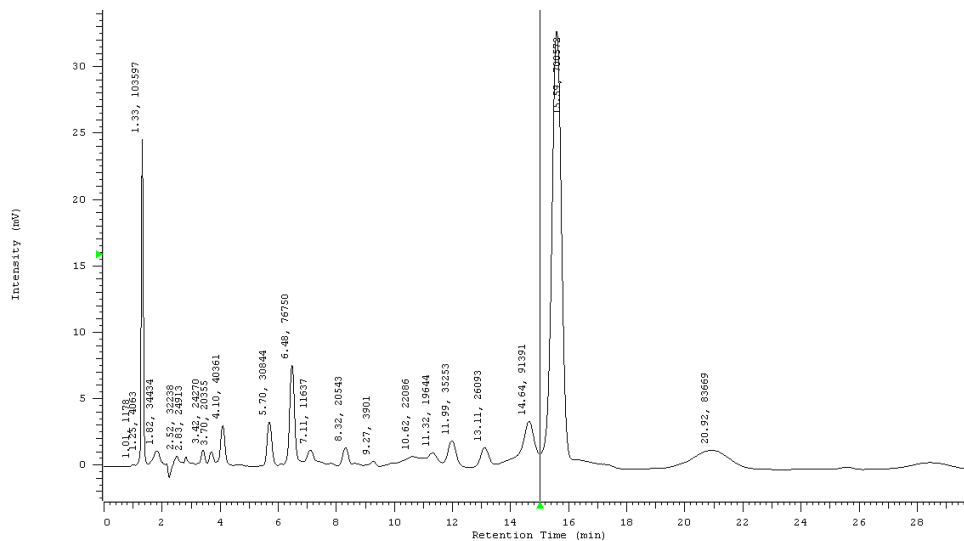


Figura 20: Cromatograma correspondente à amostra iRB7.

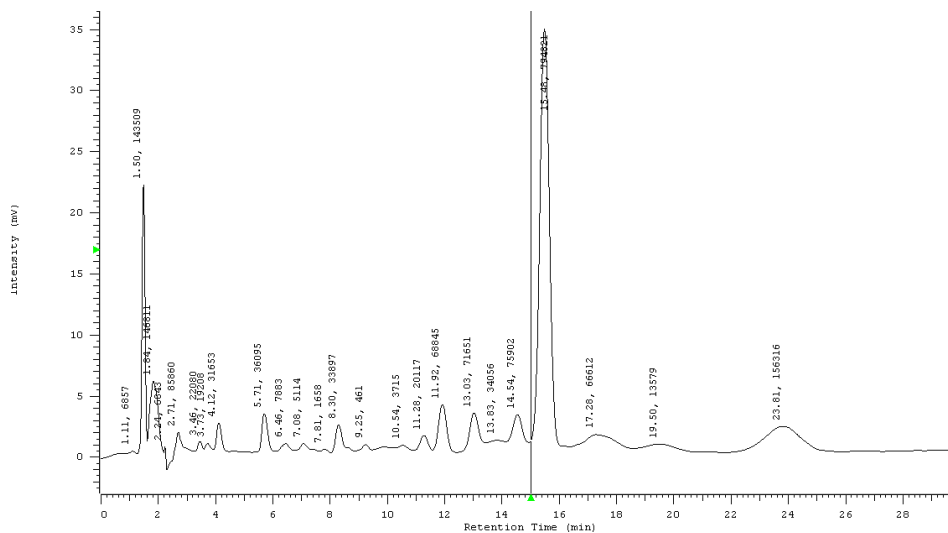
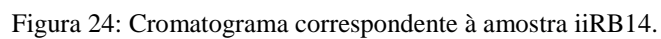


Figura 21: Cromatograma correspondente à amostra iiRB7.



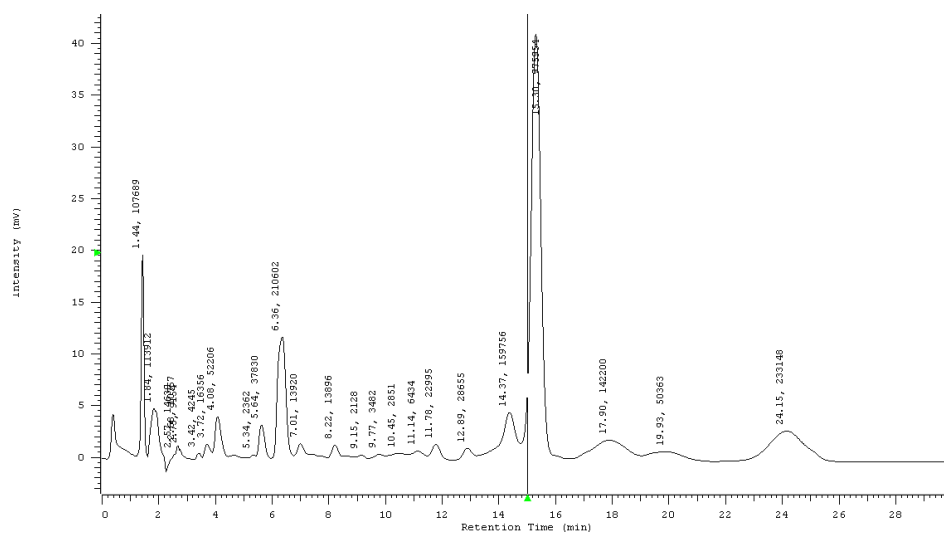
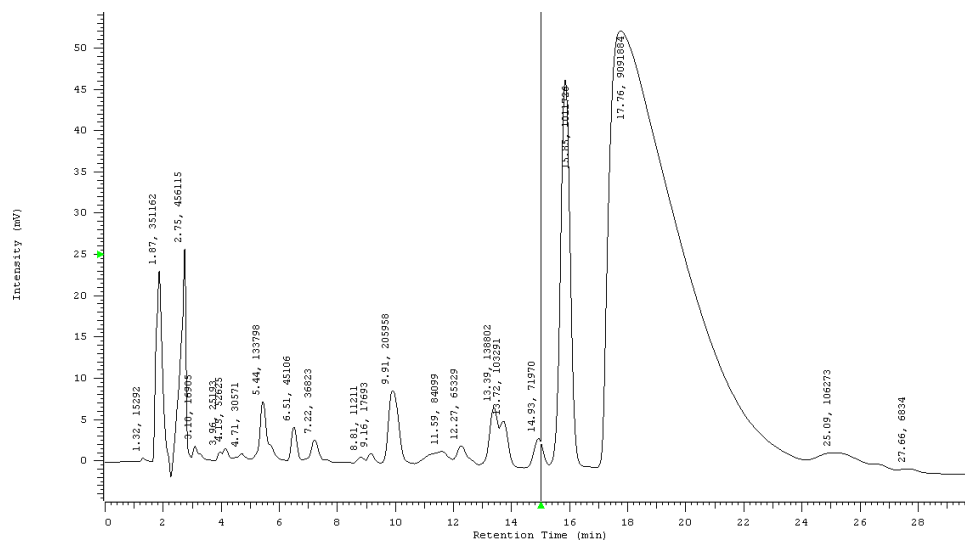


Figura 25: Cromatograma correspondente à amostra iiiRB14.



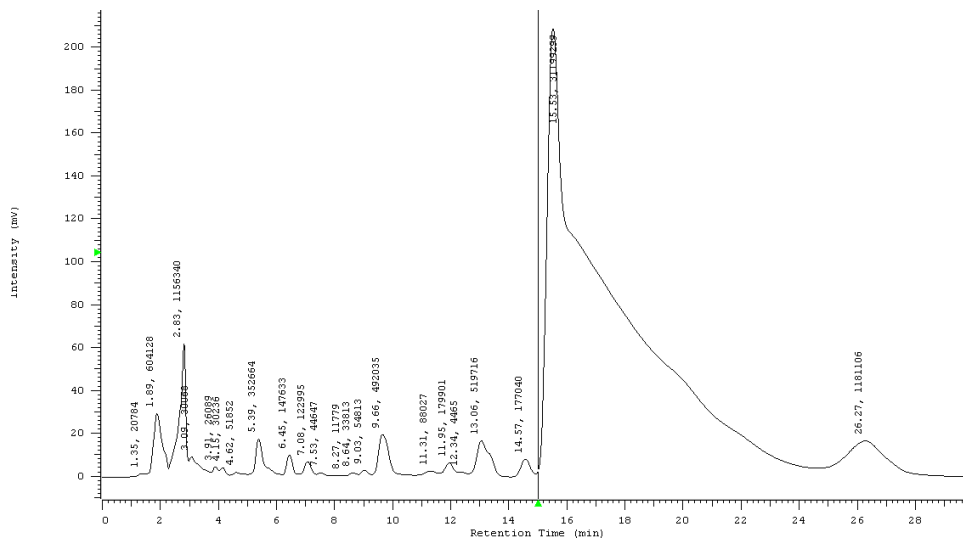


Figura 28: Cromatograma correspondente à amostra iRC7.

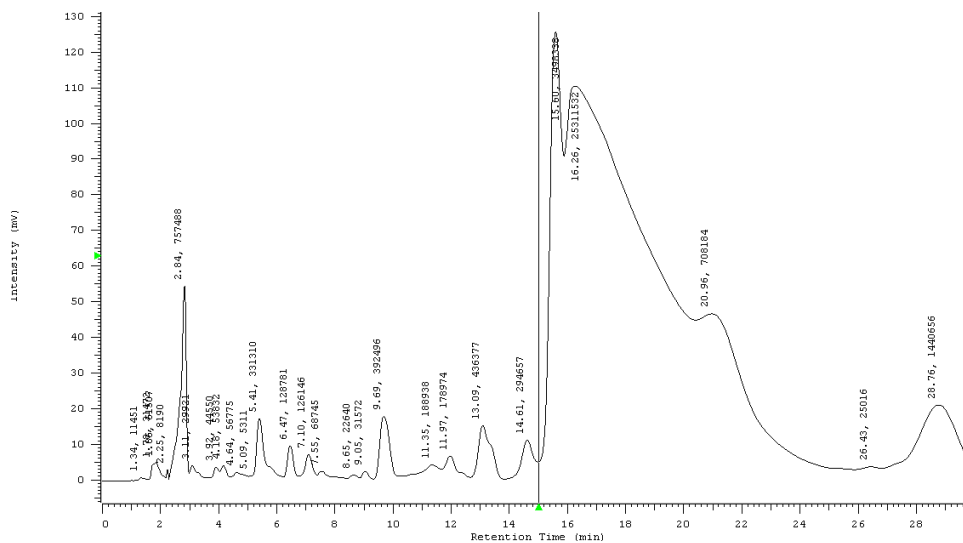


Figura 29: Cromatograma correspondente à amostra iiRC7.

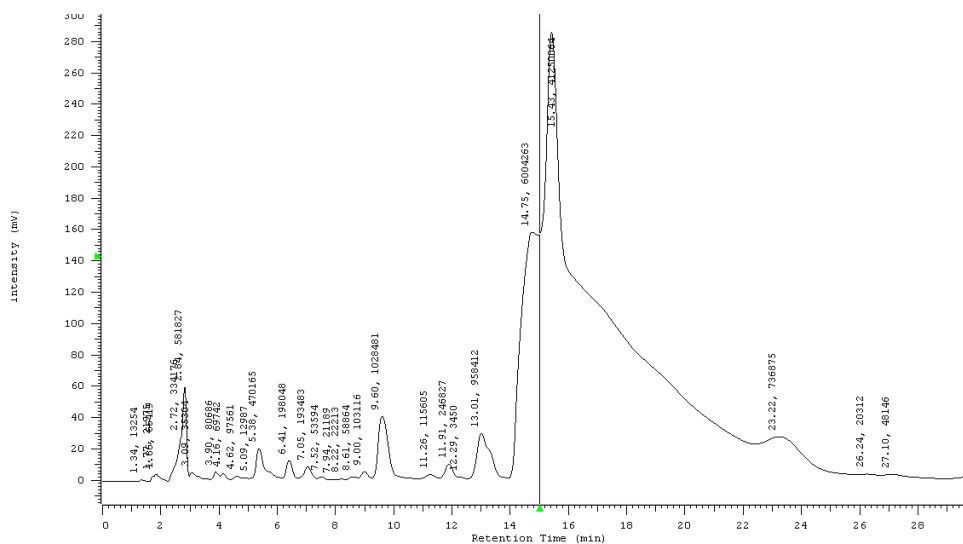


Figura 30: Cromatograma correspondente à amostra iiiRC7.

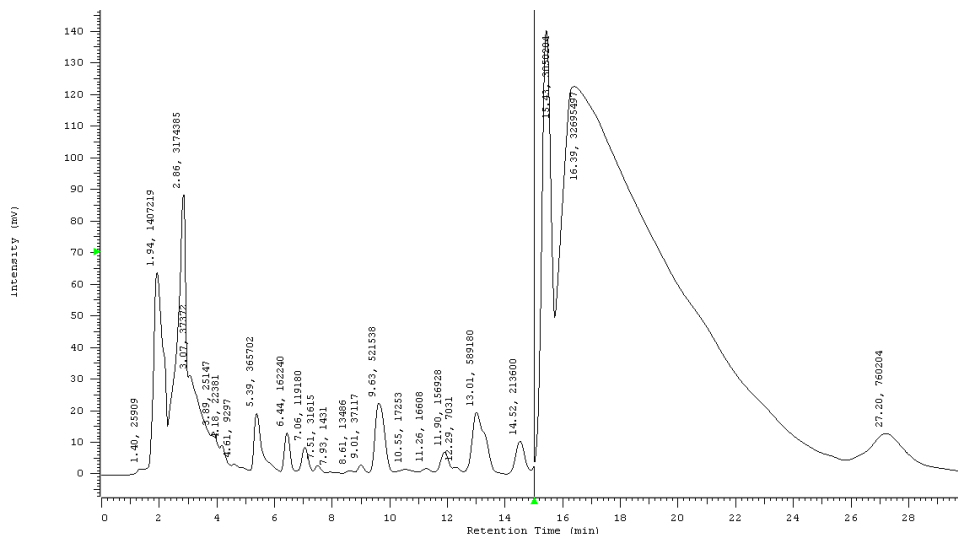


Figura 31: Cromatograma correspondente à amostra iRC14.

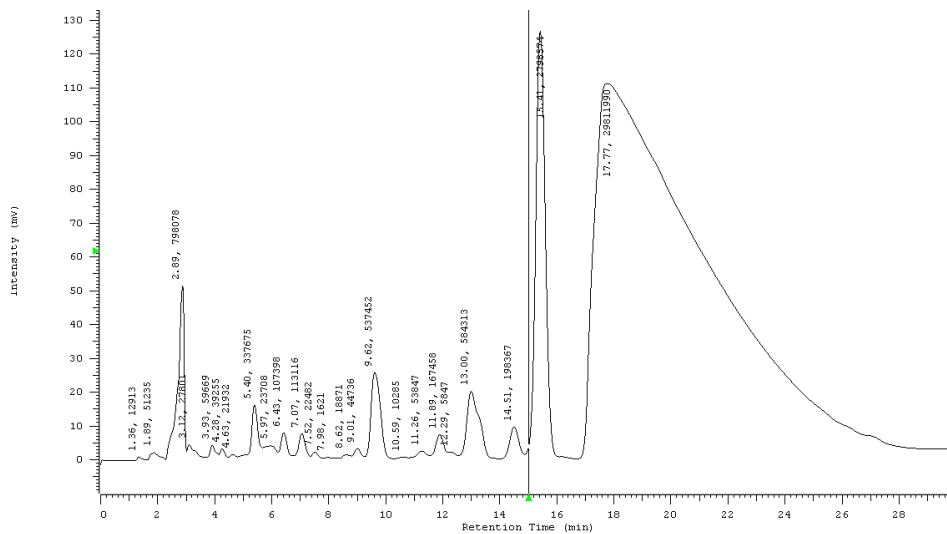


Figura 32: Cromatograma correspondente à amostra iiRC14.

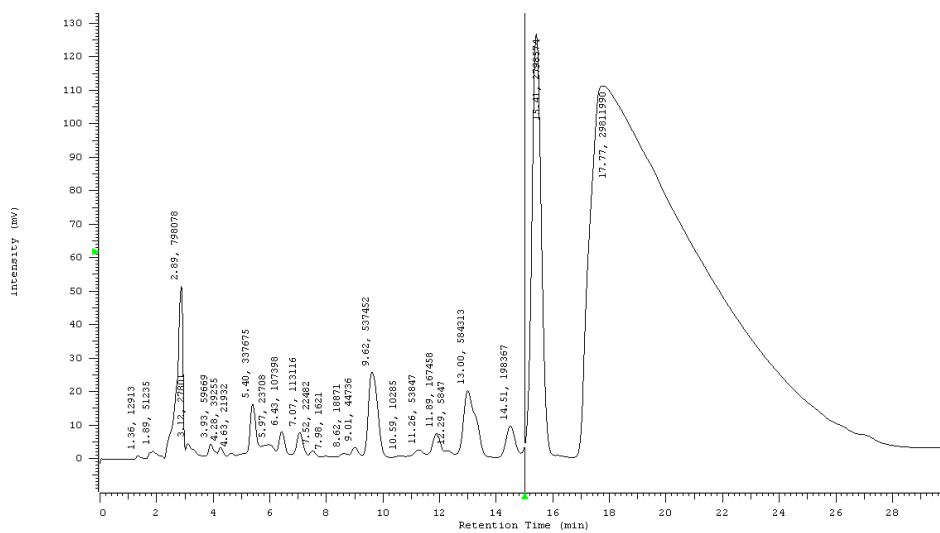


Figura 33: Cromatograma correspondente à amostra iiiRC14.